

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGIA



TESIS DOCTORAL

Eficacia clínica del bloqueo de las ramas cutáneas de los nervios intercostales en cirugía de cáncer de mama e influencia de la técnica anestésica en los niveles séricos de IL-6; IL-10 y Sustancia P en el postoperatorio

Verónica López Pérez

Directores de la Tesis Doctoral:

Dr. Fernando Cassinello Plaza

Dr. Luis E. Muñoz Alameda

Madrid, Febrero 2017

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGIA



TESIS DOCTORAL

Eficacia clínica del bloqueo de las ramas cutáneas de los nervios intercostales en cirugía de cáncer de mama e influencia de la técnica anestésica en los niveles séricos de IL-6; IL-10 y Sustancia P en el postoperatorio

Verónica López Pérez

Directores de la Tesis Doctoral:

Dr. Fernando Cassinello Plaza

Dr. Luis E. Muñoz Alameda



TESIS DOCTORAL

Eficacia clínica del bloqueo de las ramas cutáneas de los nervios intercostales en cirugía de cáncer de mama e influencia de la técnica anestésica en los niveles séricos de IL-6; IL-10 y Sustancia P en el postoperatorio

Verónica López Pérez

“ Una pregunta que no tiene respuesta es un barrera que no puede atravesarse. Dicho de otro modo: Precisamente las preguntas que no tienen respuesta son las que determinan las posibilidades del ser humano, son las que trazan las fronteras de la existencia del hombre”

La insoportable levedad del ser, Milan Kundera

A mis hijos, porque sois la razón de mi vida y os quiero con toda el alma. Ojalá os podáis sentir tan orgullosos de mí como yo lo estoy de vosotros.

A Jorge, por apoyarme, animarme y quererme cada día.

A mis padres, por enseñarme el valor del esfuerzo y del trabajo en equipo, por habernos dedicado su vida entera.

A mi hermana, por el entusiasmo que mostró cuando la conté que estaba comenzando este proyecto, y porque es la persona que más fe tiene en mí como médico.

Al Dr. Muñoz Alameda, por ser mucho más que mi jefe. Porque ha estado siempre ahí desde el inicio de mi andadura como anestesista. Por su esfuerzo personal para que podamos crecer como profesionales. Por facilitarnos al máximo la realización de esta tesis.

A todos mis adjuntos de la Fundación Jiménez Díaz, por haberme enseñado todo lo que sé. Anestelistas excepcionales, y además, excepcionales personas. Es un orgullo pertenecer a este equipo.

Al Dr. Arévalo y al Dr. Arcas, por haberme ayudado en tantísimas situaciones siempre que les he necesitado. Por tanta vida compartida desde que nos conocemos y porque espero que sigamos siendo amigos dentro de muchísimos años.

Al Dr. Álvarez de Rementería, por su sabiduría, sus consejos, las conversaciones arriba y abajo en el pasillo. Porque es imposible describir la suerte que tenemos al compartir quirófano con él cada día.

A la Dra Moris, por ser un apoyo incansable durante estos meses, y por haberme animado tanto en aquellos momentos en los que estuve a punto de dejarlo.

Al equipo de Nuevas Terapias de la Fundación Jiménez Díaz,(Mariano, Susana, Alejandro, Luz), y al Laboratorio de Nefrología (Loli) por todo el trabajo y la dedicación que han dedicado a este estudio de forma absolutamente altruista,

Y sobre todo, al Dr. Cassinello, sin cuyo entusiasmo este proyecto no hubiera salido adelante, por contagiarnos sus inquietudes, y transmitirnos su pasión por la anestesia en general, y por la investigación en particular. Por su ayuda desinteresada, su paciencia, sus correcciones, y las horas que hemos pasado dando vueltas a estas páginas.

A nuestras pacientes, cuyas historias de lucha y superación personal nos calan hondo en numerosas ocasiones. Porque nuestro esfuerzo diario se traduzca en mejor pronóstico y mejor calidad de vida para ellas. Realmente las protagonistas de este proyecto.

ÍNDICE

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES, TABLAS Y FIGURAS	11
GLOSARIO	17
RESUMEN	23
ABSTRACT	27
I. INTRODUCCIÓN	31
1. Situación actual	33
2. Tipos de cáncer de mama	34
3. Diagnóstico del cáncer de mama	38
4. Tratamientos del cáncer de mama	40
5. Técnicas anestésicas en mastectomía	43
6. La formación de las metástasis	56
7. Interleucinas, sustancia P y factor de crecimiento inducible por hipoxia	62
8. Efecto de la cirugía sobre la recurrencia del cáncer	73
9. Fármacos utilizados en la anestesia general y cáncer	82
10. Anestesia regional, anestésicos locales y cáncer	91
11. Anestesia loco-regional y supervivencia	93
12. Anestésicos locales y su relación con inflamación, apoptosis y migración	94
II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	103
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	107
IV. MATERIAL Y MÉTODOS	111
1. Población a estudio	113
2. Randomización	114
3. Técnica anestésica	115

4. Valoración de la eficacia clínica y efectos adversos	116
5. Obtención de muestras	116
6. Análisis estadístico	117
7. Cultivos celulares	118
8. Estudios <i>in vitro</i> de migración y proliferación celular con lidocaína y sustancia P	118
9. Determinación de niveles séricos de sustancia P, IL-6 e IL-10	120
V. RESULTADOS	121
1. Variables clínicas	123
2. Estudio <i>in vitro</i> con sustancia P y anestésico local en células hASCs y MDA-MB-231	127
3. Determinación de sustancia P en el suero de pacientes sometidas a AGM versus BIP	132
4. Determinación de IL-6 e IL-10 en el suero de pacientes sometidas a AGM versus BIP	134
VI. DISCUSIÓN	139
1. Variables clínicas	141
2. Estudio preliminar <i>in vitro</i> con lidocaína y sustancia P	146
3. Estudio de sustancia P, IL-6 e IL-10 en el suero de pacientes sometidas a AGM versus BIP	150
VII. CONCLUSIONES	159
VIII. BIBLIOGRAFÍA	163
IX. ANEXOS	185

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES, TABLAS Y FIGURAS

ILUSTRACIONES

Ilustración 1: Carcinoma ductal infiltrante

Ilustración 2: Carcinoma lobar infiltrante

Ilustración 3: Carcinoma tubular

Ilustración 4: Carcinoma medular

Ilustración 5: Carcinoma mucinoso

Ilustración 6: William Halsted

Ilustración 7: Seishy Hanaoka

Ilustración 8: Datura Alba

Ilustración 9: Salida del nervio pectoral lateral desde la fascia clavipectoral junto con la rama pectoral de la arteria toracoacromial y la vena cefálica

Ilustración 10: Paquete vasculo-nerviosos responsable de la innervación de músculos pectorales

Ilustración 11: Imagen ecográfica del PEC I

Ilustración 12: Innervación de la mama por nervios intercostales

Ilustración 13: Innervación de la axila

Ilustración 14: Innervación de la mama y de la cara anterior del tórax. Los números representan los nervios intercostales y los círculos las áreas: superior, inferior, medial y lateral.

Ilustración 15: Secuencia ecográfica para la realización de bloqueo de las ramas cutáneas laterales

Ilustración 16: Lugar de inyección del Anestésico local en el bloqueo BRILMA

Ilustración 17: Etapas en la formación de las metástasis

Ilustración 18: Célula NK vista con microscopía electrónica

Ilustración 19: Mediadores de la reacción inflamatoria

Ilustración 20: Mecanismo de activación de las caspasas

TABLAS

Tabla I: Principales acciones de las Interleucinas

Tabla II: Características de las pacientes, expresadas como media, valor absoluto o porcentaje

Tabla III: Estadío tumoral de las pacientes. Número absoluto

Tabla IV: Anatomía patológica y características tumorales.

Tabla V: Consumo de analgésicos y opiáceos intraoperatorios.

Tabla VI: Comparación de EVN 1h y EVN 18h entre los grupos

TablaVII: Comparación de las variaciones de SP en función del tipo de anestesia

TablaVIII: Comparación de valores de SP respecto a los valores basales

Tabla IX: Cambios en IL-6

Tabla X: Modificación de los niveles de IL-6 en función del tipo de anestesia y del tipo de cirugía

Tabla XI: Cambios en IL-10 en función del tipo de anestesia

Tabla XII: Cambios en IL-10 en función del tipo de cirugía

FIGURAS

Fig 1: A. Migración en células hASCs a las 12h; B. Migración en células MDA-MB-231 a las 12h tras ser cultivadas con diferentes concentraciones de lidocaína

Fig 2: A. Migración en células hASCs a las 12h; B. Migración en células MDA-MB-231 a las 12h tras ser cultivadas a diferentes concentraciones de SP

Fig 3: A. Migración en células hASCs a las 12h; B. Migración de células MDA-MB-231 bajo el efecto de diferentes concentraciones de lidocaína

Fig 4: A. Proliferación de células hASCs con diferentes concentraciones de lidocaína. B. Proliferación de células MDA-MB-231 con diferentes concentraciones de lidocaína (μM).

Fig 5: A. Proliferación de células hASCs. B. MDA-MB-231 tras ser cultivadas a diferentes concentraciones de sustancia P

Fig 6: A. Células hASCs tras cultivo con lidocaína + sustancia P; B: Células MDA-MB-231 tras cultivo con lidocaína + sustancia P

Fig 7: Cambios séricos en los niveles de SP en función del tipo de anestesia

Fig 8: Cambios en la SP según el tipo de cirugía.

Fig 9: Cambios séricos de la IL-6 en función del tipo de anestesia

Fig 10: de la IL-6 en función del tipo de cirugía

Fig 11: Cambios séricos de la IL-10 en función de la anestesia utilizada

Fig 12: Diferencia de las concentraciones séricas de IL-10 en pacientes sometidas a mastectomías o tumorectomías

GLOSARIO

ACTH: Hormona adenocorticotropa

ADN: Ácido dexosirribonucleico

AINES: Antiinflamatorios no esteroideos

AG: Anestesia General

AGM: Anestesia General/Morfina

AL: Anestésicos locales

ARN: Ácido ribonucleico

BCRA: Bloqueo de las ramas cutáneas anteriores de los nervios intercostales

BCRL: Bloqueo de las ramas cutáneas laterales de los nervios intercostales

BIP: Bloqueo Intercostal/ Propofol

Ca : Cáncer

CAF: Fibroastos asociados al cáncer

CDI: Carcinoma ductal infiltrante

CLI: Carcinoma lobar infiltrante

DCIS: Carcinoma ductal in situ

ET: Terapia endocrina

ER-p: Receptores de Estrógeno positivos

EVN: Escala Verbal Numérica

FDA: Food and Drug administration

GH: Hormona de crecimiento

GM-CSF: Factor estimulante de colonias de macrófagos y granulocitos

hASCs: Células madre derivadas del tejido adiposo humano

HER2: Receptor del factor de crecimiento humano epidérmico

HGF: Hipoxic Frowth factor

HIF: Factor Hipóxico

HPA: Eje hipotálamo- pituitario-adrenal

iGIF: Factor inductor del interferón alfa

IGF: Insulin Growth Factor

IL: Interleucinas

INT: Interferón

INT α : Interferón alfa

INT β : Interferón beta

INT γ : Interferón gamma

LCIS: Carcinoma lobulillar in situ

LT: Leucotrienos

LTB4: Leucotrieno B4

MMP: Metaloproteinasas de la matriz

MRI: Imagen molecular de la mama

MRM: Mastectomía radical modificada

NK-1: Neurokinina 1

NK-1r: Receptor de la neurokinina 1

OGFr: Receptor del factor de crecimiento opioide

PAF: Factor activador de plaquetas

PAAF: Punción aspiración con aguja fina

PCR: Proteína C reactiva

PEC: Bloqueo de los nervios pectorales

PG: Prostaglandinas

PGE-2: Prostaglandina E2

PMN: Leucocitos polimorfonucleares

PONV: Náuseas y vómitos postoperatorios

PR: Receptores de progesterona

RT: Radioterapia

RMN: Resonancia magnética nuclear

SI: Sistema inmune

SIRS: Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica

SP: Sustancia P

TGF: Transforming growth factor

TNF: Factor de necrosis tumoral

TNF α : Factor de necrosis tumoral alfa

TRIM: Inmunomodulación asociada a la transfusión

VEGF: Factor de crecimiento endotelio vascular

RESUMEN

I. INTRODUCCIÓN

El cáncer de mama es una de las principales causas de muerte entre las mujeres de todo el mundo. Incluso cuando se supone que la cirugía es curativa, muchas pacientes sufrirán enfermedad metastásica. Hay gran cantidad de factores perioperatorios, incluyendo la técnica anestésica, que influirán en si las micrometástasis residuales serán eliminadas por el sistema inmune o desarrollarán enfermedad metastásica a distancia. El periodo perioperatorio puede favorecer la migración y la proliferación de células malignas. La apoptosis de las células tumorales está influenciada por múltiples factores, incluyendo las citoquinas. Se conoce que la IL-6, la IL-10 y la sustancia P (SP) participan en el microambiente tumoral favoreciendo o inhibiendo dichos procesos.

La cirugía de cáncer de mama es una de las más habituales en nuestro medio, incluye tumorectomías, y mastectomías con o sin vaciamiento axilar. Incluso cirugías relativamente pequeñas pueden presentar un dolor postoperatorio importante, por eso a la anestesia general habitualmente se asocian bloqueos epidurales, paravertebrales u otras técnicas regionales. El bloqueo de los nervios intercostales es otra alternativa, particularmente útil en pacientes ambulatorias.

II. OBJETIVO DEL ESTUDIO

- Demostrar que el bloqueo de nervios intercostales asociado a anestesia intravenosa con propofol (BIP), proporciona mejor analgesia postoperatoria que la anestesia general con sevofluorano y opiáceos (AGM), con menos náuseas y vómitos (PONV), y menos consumo de opiáceos postoperatorios
- Determinar si los niveles séricos de citoquinas (IL-6, IL-10) y SP se modifican en grupo BIP comparado con el grupo AGM
- Analizar si la lidocaína o la SP afectan a la migración o a la proliferación *in vitro* en células benignas o tumorales

III. MATERIAL Y MÉTODOS

Se randomizaron 20 mujeres diagnosticadas de cáncer de mama para ser anestesiadas con BIP o AGm. El bloqueo intercostal se realizó bajo control ecográfico, con 25 ml de chirocane 0.25%. Se recogieron 20 ml de sangre periférica antes de la inducción anestésica, 1h tras la cirugía en la sala de recuperación, y en la habitación a las 24h postquirúrgicas.

Se obtuvo el suero tras la centrifugación de las muestras.

Se registró el consumo de fentanilo intraoperatorio, la puntuación de dolor en la escala verbal numérica (EVN) a la hora y 24 h postoperatorias, consumo de fentanilo y náuseas y vómitos postoperatorios y estancia hospitalaria.

Se midieron las concentraciones de IL-6; IL-10 y SP mediante test ELISA para determinar si el tipo de anestesia afectaba a los niveles séricos de estas sustancias.

Previamente, se analizó el efecto de la lidocaína y la SP en la migración y proliferación *in vitro* sobre células madre derivadas del tejido adiposo humano (hASCs) y sobre células de cáncer de mama (MDA-MB-231) cultivadas con diferentes concentraciones de AL.

Analizamos la migración con un ensayo de cierre de herida y la proliferación con un ensayo de viabilidad con AlamarBlue®.

Todos los ensayos se repitieron por triplicado

IV. RESULTADOS

- Las características demográficas de las pacientes y la duración de la cirugía fueron similares en ambos grupos. Las pacientes del grupo BIP presentaron menores puntuaciones en la EVN, menos incidencia de náuseas y vómitos y no necesitaron opiáceos en la unidad de recuperación.
No presentaron diferencias en la estancia intrahospitalaria ni en el consumo de fentanilo intraoperatorio.
- Los niveles de IL-6; IL-10 y SP no están afectados por el tipo de anestesia (AGM vs BIP)

- La lidocaína *in vitro* inhibe de forma significativa la migración y la proliferación tanto en células benignas como tumorales, pero de manera más potente sobre las últimas.
- La SP favorece la proliferación sólo de células tumorales, y parece que no afecta a la migración. Además, antagoniza parcialmente los efectos de la lidocaína sobre la proliferación.

V. DISCUSIÓN

El bloqueo intercostal es relativamente sencillo. Blanco et al no describen ninguna complicación. Nosotros tampoco registramos ninguna.

El dolor postoperatorio estuvo perfectamente controlado en las pacientes del grupo BIP, ninguna demandó analgesia extra en la unidad de recuperación y tuvieron menores puntuaciones en las escalas de dolor.

La inhibición de la proliferación o la migración de células tumorales por el anestésico local y su citotoxicidad sobre algunas células representa un importante mecanismo por el que los anestésicos locales pueden ayudar a evitar el desarrollo de metástasis en el periodo perioperatorio y mejorar la supervivencia.

En estudios recientes, se ha demostrado que produce desmetilación del DNA de una forma tiempo y dosis dependiente en líneas celulares de cáncer de mama. También produce disminución de la migración de manera dosis dependiente, de manera mucho más potente sobre las células tumorales que sobre las mesenquimales.

Comprobamos, así mismo, que el efecto proliferativo de las SP puede ser completamente antagonizado por la lidocaína.

La IL-6 y la IL-10 son citoquinas multifuncionales secretadas por diferentes células y juegan un importante papel en la defensa del huésped y en la modulación del sistema inmune. No encontramos relación entre los niveles séricos y el tipo de anestesia que se realizó a las pacientes. Seguramente la concentración de los anestésicos locales es suficiente alta en la zona de punción para causar cambios a nivel local, pero son dosis muy bajas para producir cambios en los niveles séricos a nivel sistémico. Tampoco hay diferencias

significativas entre los dos grupos, pero sí que encontramos niveles más elevados de ambas interleuquinas entre las pacientes sometidas a mastectomías que en tumorectomías (cirugías más largas y agresivas).

Podemos concluir que los niveles séricos de IL-10 e IL-6 no están relacionados con el tipo de anestesia, y su papel real como citoquinas antiinflamatorias, factores pronósticos o pro-estimulantes requieren de más estudios prospectivos. Es posible que la administración de lidocaína iv o epidural pueden influenciar los niveles sistémicos más que un bloqueo periférico. Además hay que depurar si realmente los AL influyen sus niveles y a que dosis.

ABSTRACT

I. INTRODUCTION

Breast cancer is one of the main causes of death between women all over the world. Even when surgery is supposed to be curative, many patients will suffer from metastatic disease. A number of perioperative factors during surgery including anaesthetic technique might influence whether minimal residual micrometastases are eliminated by the immune system or become full-blown metastatic disease. Perioperative period can lead to migration and proliferation of malignant cells. Apoptosis of tumoral cells is influenced by multiple factors, including immune cytokine signalling. IL-6, IL-10 and substance P are known to participate in the tumoral microenvironment leading to proliferation and migration or rather inhibiting these processes.

Breast cancer surgery is one of the most frequently performed. These include tumorectomies and mastectomies with axillary clearance when needed. Even relatively minor breast surgery can be associated with significant postoperative pain. Thoracic epidural analgesia, paravertebral blocks and other regional techniques are commonly associated to general anaesthesia. Intercostal nerve block is another alternative described as particularly useful for ambulatory patients.

II. GOAL OF STUDY

- We aim to demonstrate that intercostal nerve block associated with propofol anaesthesia (BIP) provides better postoperative analgesia than general anaesthesia with sevoflurane and opioids (AGM) with less nausea and vomiting (PONV), and less consumption of postoperative opioids.

- To determine whether serum levels of cytokines IL-6 and IL-10, and substance P (SP) can be modified by regional/propofol anaesthesia compared to general anaesthesia.
- To test if lidocaine or SP can affect migration and proliferation *in vitro* on tumoral and benign cells.

III. MATERIALS AND METHODS

20 women with diagnosis of breast cancer were randomized to receive either BIP or AGM. The intercostal block was performed under ultrasound guidance, with 25 ml chirocane 0.25%. We collected 20 ml venous blood before anaesthetic induction, 1h after surgery at the recovery room and 24h after surgery. We centrifuged the blood samples to obtain serum.

Intraoperative fentanyl consumption, postoperative numeric verbal scale (EVN) pain scores at 1h and 24 h postoperative, postoperative fentanyl consumption, PONV scores and postsurgical hospital stay were recorded.

We assessed the concentration of IL-6, IL-10 and SP by using commercially available ELISA test, to determine if anaesthesia can affect serum levels of these substances.

Previously, we tested the effect of lidocaine and SP on migration and proliferation *in vitro* of human adipose derived stem cells (hASCs) and breast cancer cells (MDA-MB-231), treated with different doses of the local anaesthetics. We evaluated migration by a wound healing scratch assay and proliferation with an AlamarBlue® reagent viability assay. All assays were repeated in triplicate.

IV. RESULTS

- Patient demographics and duration of surgery were comparable for both groups. BIP group had no need of opioids in the recovery room and presented significantly lower EVN pain scores and less PONV scores. There was no difference in hospital stay or intraoperative fentanyl.

- We did not find any association between levels of IL-6; IL-10 and Substance P in serum and type of anaesthesia (AGM vs BIP)
- Lidocaine *in vitro* inhibited significantly migration and proliferation of benign (hASCs cells (p=0.05)) and tumoral cells (MDA-MB-231 (p=0.0001)) but in a stronger way in the last ones.
- SP partially antagonizes the inhibition of proliferation induced by lidocaine, but does not alter the decrease on migration.

V. DISCUSSION

Intercostal nerve block is relatively simple. Blanco et al did not describe any complication and we didn't registered any either.

Postoperative pain was perfectly controlled in BIP group patients and no one demanded extra analgesia in the recovery room and had lower pain scores.

Inhibition of proliferation or migration of tumor cells by local anesthetics (LA) and their cytotoxicity on some cells represents an important mechanism by which LAs applied in the perioperative period may help prevent perioperative metastases and improve long-term survival.

In recent studies, lidocaine has also been shown to cause DNA demethylation and decrease of migration in a time and dose dependent manner in breast cancer lines *in vitro*. This inhibition is much more powerful on tumor cells than on the mesenchymal cells.

We verified that proliferative effect of SP can be completely antagonized by lidocaine, predominating the inhibitory effect of the latter. We can conclude that lidocaine antagonizes the proliferative effect of the substance P.

Both IL-6 and IL-10 are multifunctional cytokines secreted by different cell types and play an important role in host defense and modulation of the immune system. We did not find differences in serum levels in both groups. Surely local anesthetic concentrations are high enough in the puncture zone to cause changes at the near level, but they are too low to produce changes in IL concentrations in serum, but we found a tendency to associate higher values in longer surgeries (mastectomies) than in tumorectomies.

We can conclude that serum levels of IL 10 and IL-6 were unrelated to the type of anaesthesia, and their true role either as an anti-inflammatory cytokine, prognostic marker or pro-stimulant requires other prospective studies with

different anaesthetics. It is also possible that the administration of IV or epidural lidocaine may influence systemic levels more than a peripheral blockade.

I. INTRODUCCIÓN

1. SITUACIÓN ACTUAL

El cáncer de mama es el tumor maligno más frecuente en la población femenina tanto en los países desarrollados como en aquellos en vías de desarrollo, exceptuando los cánceres de piel no melanomas. En el año 2008 se diagnosticaron aproximadamente 1.380.000 casos nuevos de cáncer de mama en el mundo.

La incidencia en España es menor que la de Estados Unidos, Canadá, Reino Unido, Países Bajos, Bélgica, Alemania, Francia y Suiza, siendo similar a la del resto de países de Europa mediterránea, centroeuropeos, Portugal e Irlanda.

En España se diagnostican unos 26.000 casos al año, lo que representa casi el 30% de todos los tumores del sexo femenino de nuestro país. La mayoría de los casos se diagnostican entre los 35 y los 80 años, con un máximo entre los 45 y los 65. Sin embargo, no se dispone de un registro nacional de tumores para conocer las cifras exactas¹.

Tanto el número de casos como las tasas de incidencia aumentan lentamente en España y en todo el mundo, probablemente debido al envejecimiento de la población y a un diagnóstico cada vez más precoz. El aumento de la incidencia está entre el 1 y el 2% anual y es constante desde 1960 en Estados Unidos.

Se estima que el riesgo de padecer cáncer de mama a lo largo de la vida es de, aproximadamente 1 cada 8 mujeres.

En España, además, existe una distribución geográfica notablemente variable según las provincias. Así en Cataluña la tasa de incidencia es de 83,9 casos cada 100.000 habitantes, mientras que la media nacional se sitúa en 50,9 casos/100.000 habitantes¹.

Se calcula que debido al aumento de la incidencia y de los avances en el tratamiento el coste de la terapia oncológica en el Reino Unido en 2021 será de aproximadamente 15.3 billones de libras, por lo que además de un problema de salud claramente supone un problema económico para el presupuesto de sanidad de los países.²

2. TIPOS DE CÁNCER DE MAMA

2.1 No Invasivos

Los tumores de mama no invasivos incluyen dos tipos histológicos:

- Carcinoma ductal in situ (DCIS)
- Carcinoma lobulillar in situ (LCIS)

El DCIS se define como una proliferación de células epiteliales limitadas al ducto mamario, mientras que el LCIS es una proliferación de células epiteliales limitadas a los lobulillos.

Ninguno de los dos tipos ha presentado evidencia de invasión a través de la membrana basal. Como no son invasivos, ni DCIS ni LCIS poseen capacidad de metastatizar.

2.2 Invasivos

Los tumores invasivos de la mama son de extirpe heterogénea. La inmensa mayoría son adenocarcinomas que derivan de los ductus terminales. Existen cinco variantes histológicas del adenocarcinoma de mama:

2.2.1 Carcinoma ductal infiltrante (CDI): Constituye aproximadamente el 75% de los tumores. Se caracteriza por la ausencia de rasgos histológicos diferenciadores.

Es duro a la palpación y al corte, ya que está asociado a fibrosis. A menudo está asociado a DCIS en la muestra.

El carcinoma ductal infiltrante a menudo metastatiza a los ganglios linfáticos axilares, presentando metástasis a distancia a hueso, pulmón, hígado y cerebro.

El pronóstico de las pacientes con estos tumores es peor que el de otros tipos histológicos.

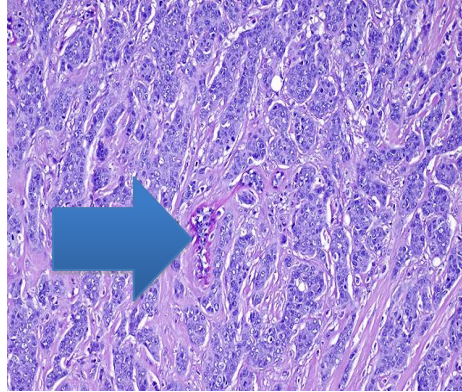


Ilustración 3: Carcinoma ductal infiltrante

2.2.2 Carcinoma lobar infiltrante (CLI): Constituye entre 5 y 10% de los cánceres de mama. Al microscopio suelen presentar un patrón de células homogéneas de pequeño tamaño que infiltran de forma aislada, en cordones de una única célula de grosor (“fila india”) o de forma concéntrica (pagetoide) alrededor de áreas de CLIS, acompañándose de un estroma desmoplásico.

Suelen crecer alrededor de los conductos y lóbulos. Tumores multicéntricos y bilaterales son frecuentes en este grupo histológico.

El pronóstico es similar al del CDI. Además de metastatizar en ganglio linfático, el CLI habitualmente lo hace en lugares inusuales como meninges y serosas mucho más frecuentemente que otros tipos.

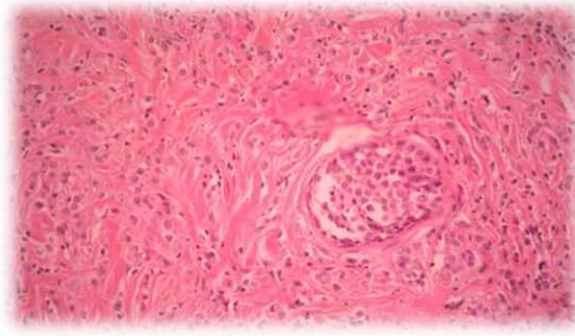


Ilustración 4: Carcinoma lobar infiltrante

2.2.3 Carcinoma tubular: Representa aproximadamente el 2% de los cánceres de mama. Se diagnostica cuando más del 75% del tumor presenta formaciones tubulares. Las metástasis ganglionares en axila son raras, siendo el pronóstico bastante mejor para las pacientes.

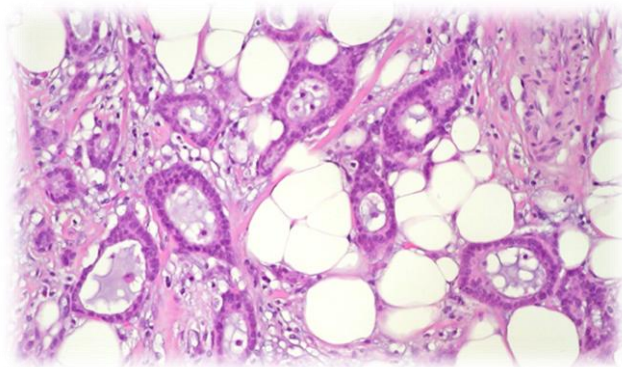


Ilustración 5: Carcinoma tubular

2.2.4 Carcinoma medular: Supone del 5 al 7%. Histológicamente, las células presentan núcleo pobremente diferenciado, patrón de crecimiento sincitial, borde bien delimitado, infiltración intensa con pequeños linfocitos y células plasmáticas, pudiendo o no existir DCIS. El pronóstico si solamente existe carcinoma medular es favorable, sin embargo, las variantes con DCIS tienen un pronóstico similar a este.

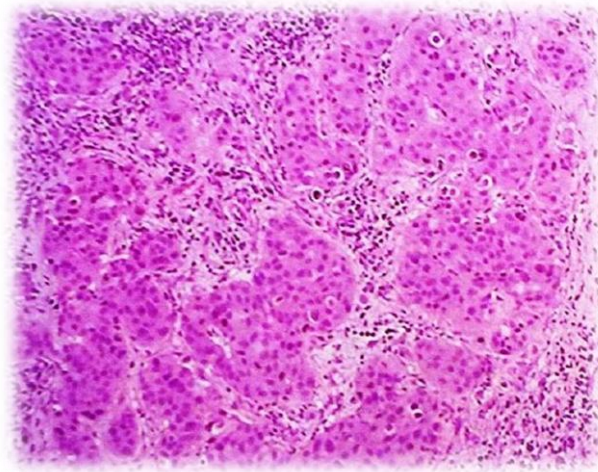


Ilustración 6 Carcinoma medular:

- 2.2.5 Carcinoma mucinoso o coloide: Aparece aproximadamente en el 3% de los casos. Se caracteriza por gran acumulación de mucina extracelular rodeando los acinos de células neoplásicas. Es de lento crecimiento y tiende a ser muy voluminoso. Su pronóstico es favorable.

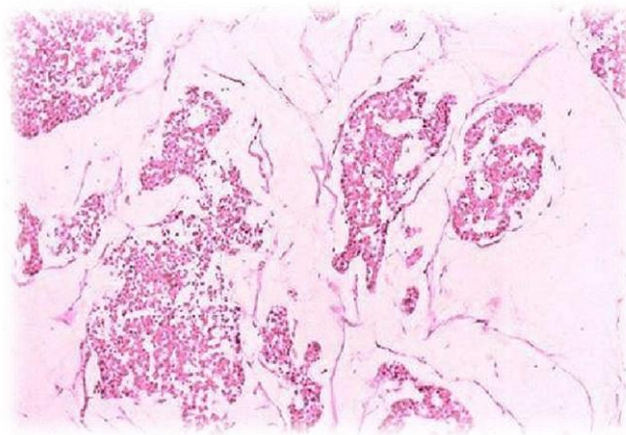


Ilustración 7: Carcinoma mucinoso

- 2.2.6 Otros tipos histológicos: Papilar, apocrino, secretor, de células escamosas o metaplásico.

Los CDI pueden presentar pequeñas zonas que contengan alguno de estos tipos histológicos, o varios de ellos. Estos tumores mixtos se comportan de manera similar al CDI.

3 DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER DE MAMA

3.1 Mamografía

La mamografía es una imagen de rayos X de la mama, actualmente digital en muchos hospitales. Su uso frecuente, sin embargo, supondría un riesgo potencial, y los falsos positivos originan estudios de imagen adicionales y necesidad de estudio histológico, fundamentalmente biopsias percutáneas.

3.2 RMN

La RMN es un potente instrumento que nos proporciona imágenes de alta resolución sin necesidad de radiación dañina, sin embargo a día de hoy no se usa de rutina³.

La RM con contraste es útil para el diagnóstico de los tumores pequeños en mamas densas, proporcionando información estructural y de parámetros cinéticos para mejorar la especificidad en el diagnóstico de lesiones benignas y malignas.

Es además útil para el estadiaje preoperatorio, para seguir la respuesta a la quimioterapia, detectar recidivas y para el cribado de las mujeres de alto riesgo.

El uso de la RM de mama en la población de alto riesgo se limita a las mujeres con mutaciones documentadas en el gen *BRCA-1* o *BRCA-2*, o aquellas con implantes mamarios prepectores o retroglandulares que impiden la correcta visualización de la mama³.

3.3 Imagen Molecular de la Mama (MRI)

Se usa un isótopo radiactivo que se fija específicamente a las células neoplásicas, y se puede detectar mediante un escaner.

3.4 Biopsia de Mama

Es el único método definitivo para el diagnóstico del cáncer de mama.

Para aumentar la exactitud del diagnóstico y reducir al máximo los falsos negativos, el examen clínico de la mama, las técnicas de imagen y la biopsia se llevan a cabo a la vez (triple test)^{4,5}.

La biopsia generalmente se realiza con la técnica de aspiración por aguja fina, que es el método menos invasivo. Se introduce una aguja fina y hueca en el pecho para recoger células de la lesión sospechosa, que posteriormente se analizarán. Es una técnica rápida y sencilla.

3.5 Marcadores Tumorales

Los marcadores de cáncer de mama son CA 15-3, CEA y CA 27-29. Todos tienen baja sensibilidad y especificidad y por lo tanto no son útiles en la detección precoz del cáncer. La Sociedad Americana de Oncología Clínica recomienda el uso de estos marcadores solamente en el seno de enfermedad metastásica⁶.

4 TRATAMIENTO DEL CÁNCER DE MAMA

4.1 Tratamiento Médico

Entre el 70 y el 80% de los cánceres de mama tienen receptores de estrógenos positivos (ER-p, ER+) y por lo tanto la terapia endocrina (ET) es utilizada como adyuvante a la cirugía en la mayoría de los casos ⁷. Esto ha supuesto una mejora en la supervivencia postquirúrgica y una disminución en la aparición de metástasis, sobre todo en pacientes con tumores de pequeño tamaño con ER+, que reciben ET sola o asociada con terapia citotóxica.

La terapia adyuvante ET se basa en varios pilares:

- Supresión ovárica
- Moduladores selectivos de los ER (SERMs), como el tamoxifeno
- Inhibidores de la aromatasa⁸

En los casos de cánceres con receptores negativos se habla de “*triple negativo*”, estos tumores se caracterizan por ER negativos, receptores de progesterona (PR) negativos, y ausencia de expresión HER2 ⁹. Estas pacientes suelen tener un pronóstico peor al estar limitadas las terapias, ya que no se pueden usar ET o terapias cuya diana sea el receptor tipo 2 del factor de crecimiento epidérmico humano (HER2). En estos casos el único tratamiento disponible es la quimioterapia ¹⁰ mucho más efectiva, sin embargo, en pacientes con este tipo de tumores que en aquellas con ER+¹¹.

4.2 Radioterapia

El tratamiento coadyuvante habitual, en los casos que está indicada, es la radioterapia externa sobre la mama. Actualmente se está comenzando a utilizar también radioterapia intraoperatoria¹².

4.3 Tratamiento Quirúrgico

La cirugía es generalmente el primer escalón de un tratamiento multidisciplinar en el cáncer de mama. Permite el control local, pero también ayuda a establecer la terapia adyuvante más indicada ¹³.

El término mastectomía proviene del griego *mastos*: mama y *ektomée*: extirpación.

La mastectomía se comienza a utilizar de forma reglada como tratamiento radical del cáncer de mama a partir de 1890, por Halsted y Meyer¹⁴. Asociaba la extirpación de ambos músculos pectorales y linfadenectomía ¹⁵.



Ilustración 8: William Steward Halsted, nacido el 23 de Septiembre de 1852

La tendencia actual es un tratamiento quirúrgico cada vez menos agresivo, con menor morbilidad funcional, ya que se ha demostrado en múltiples estudios randomizados comparando la cirugía conservadora con la mastectomía radical, que presentan porcentajes de supervivencia similares¹⁴. A nivel local, esta cirugía de mama más conservadora ha sido posible no sólo por la evolución de las técnicas quirúrgicas, sino también por la quimioterapia neoadyuvante. Las técnicas quirúrgicas incluyen:

- *Mastectomía radical*: Extirpación de la glándula mamaria con su piel correspondiente, ambos pectorales y vaciamiento axilar completo
- *Mastectomía radical ampliada*: A la mastectomía radical se asocia la extirpación de los ganglios de la arteria mamaria interna.
- *Mastectomía radical modificada*: En la que se extirpa la glándula mamaria sin pectorales, con vaciamiento axilar generalmente completo. La incisión empleada es horizontal, con lo que se mejora el resultado cosmético.
- *Mastectomía simple o total*: Consiste en la extirpación de toda la glándula mamaria, sin vaciamiento axilar, a través de una incisión generalmente horizontal.
- *Mastectomía subcutánea*: Se trata de la extirpación de la mayor parte de la glándula mamaria conservando la piel, pezón-areola, y sin realizar vaciamiento axilar.
- *Tumorectomía*: Consiste en extirpar solamente la zona tumoral con un margen de seguridad.

A nivel axilar, la mejora quirúrgica se ha logrado gracias a la biopsia del ganglio centinela, cada vez más indicada¹³.

5 TÉCNICAS ANESTÉSICAS EN MASTECTOMÍA

Según los documentos históricos de que disponemos, la primera cirugía exitosa de cáncer de mama bajo AG en el mundo fue llevada a cabo por Seishu Hanaoka en 1804¹⁶. El procedimiento se generalizó gracias a la aplicación de la anestesia quirúrgica, que se estableció definitivamente tras la demostración pública del uso del éter por Morton en 1846¹⁷. C W Long había comenzado a usar el éter en 1842.

Hanaoka utilizó un anestésico oral denominado " Tsusensan (o Mafutsu-To)", que llevaba probando casi 20 años y que finalmente utilizó en una mastectomía el 13 de Octubre de 1804. Hanaoka operó de cáncer de mama a 156 mujeres, algunas de las cuales lograron una supervivencia de 3 años¹⁸.



Ilustración 9: Seishy Hanaoka:1760-1835

'TSUSENSAN': LA RECETA

La receta del anestésico de Hanaoka ('tsusensan') estaba formada por: 8 partes de *Datura alba* (trompeta de angel blanco {*D.stramonium*}), 2 partes de *Aconium japonicum* (Aconita Japonesa), 2 partes de *Angelica dahurica* (Angelica China), 2 partes *Angelica decursiva* (Angelica noruega), 2 partes de *Ligusticum wallichii* y 2 partes de *Arisaema japonicum*.

La mezcla tiene que hacerse una pasta, hervirla en agua y tomarla caliente. De 2 a 4 horas después el paciente permanecerá insensible al dolor y caerá inconsciente.

En función de la dosis, este efecto durará de 6 a 24 horas.

Los elementos activos de esta pócima son escopolamina, hiosciamina (atropina), aconitina y angelicotoxina. Al combinarlos, producen anestesia, sueño y parálisis. Muchas de estas sustancias son antagonistas de la acetilcolina, por lo que son bloqueantes de la transmisión nerviosa.¹⁹



Ilustración 8: *Datura Alba*

La anestesia general es actualmente la técnica estándar usada en la cirugía de cáncer de mama. La vigilancia actual de los costes hospitalarios implica el intento de reducir la estancia hospitalaria en estas pacientes. Sin embargo, en muchos casos la cirugía per se hace poco viable la realización de cirugía ambulatoria²⁰.

Actualmente hay multitud de publicaciones que avalan el uso de bloqueo de nervios periféricos junto con la AG, para mejorar tanto la calidad de la anestesia intraoperatoria como la analgesia posterior. Además, añadir técnicas locorregionales podría influir en la

supervivencia a largo plazo y en la recidiva, afectando así al pronóstico de la enfermedad.

5.1 Técnicas con Anestesia Local Pura

Esta técnica está reservada a pacientes de edad avanzada con mucha comorbilidad asociada, que suelen tener tumores menos agresivos y además su riesgo de fallecer por otras causas es mayor que por el propio cáncer. Carlson²¹ describe la realización de mastectomía total unilateral mediante la infiltración de lidocaína con adrenalina (25 ml de lidocaína al 1% y 1 ml de adrenalina 1:1000 en 1 litro de Ringer Lactato), permitiendo la correcta realización de la técnica quirúrgica y sin presentar complicaciones anestésicas.

Los autores lo describen como adecuado para aquellas pacientes con estadíos IIIa o IIIb, ASA IV no candidatas a anestesia general²², o aquellas que rechazan dicha anestesia²³.

5.2 Infiltración de la Herida Quirúrgica

La infiltración de la herida quirúrgica con AL se utiliza habitualmente durante la cirugía de mama para reducir el dolor postoperatorio y el consumo de opiáceos. Estudios recientes han evaluado el efecto analgésico valorando el nivel de dolor y el consumo de analgesia suplementaria en casi 700 pacientes a las que se les realizó mastectomía o segmentectomía, reducción mamaria, excisión de nódulos benignos u otros tipos de cirugía mamaria. Como conclusión, determinaban un efecto analgésico óptimo en las primeras horas (<12h) tras la cirugía²⁴⁻²⁶, pero posteriormente un dolor moderado, por lo que aconsejan la utilización de otras técnicas analgésicas mejor que la infiltración de la herida quirúrgica²⁵.

Estos mismos resultados se han obtenido en estudios con animales²⁶.

5.3 Bloqueo Paravertebral

El bloqueo torácico paravertebral es una alternativa muy atractiva para complementar la anestesia general (AG) en la cirugía de la mama, comenzándose a realizar al inicio de los años 90²⁰.

Existen metaanálisis que concluyen que el uso de bloqueos paravertebrales disminuye el dolor postoperatorio cuando se comparan con la AG sola, suponen un consumo de analgésicos postoperatorios significativamente menor, y están asociados a menor incidencia de náuseas y vómitos postoperatorios²⁷⁻²⁹. Además las pacientes presentan mejor percepción de la calidad quirúrgica y menor estancia hospitalaria^{28,30,31}.

También han demostrado que una inyección única de anestésico a nivel paravertebral implica menor necesidad de opiáceos, mayor latencia tras la primera dosis de opioides y menor dolor en las primeras 24 h en comparación con placebo, menor sedación a los 90 minutos y mejores resultados en las pruebas psicológicas y de coordinación ocular³⁰. La realización de este bloqueo presenta el riesgo asociado a intoxicación por AL³².

En casos excepcionales en los que está contraindicada la AG, la cirugía se podría realizar sólo con este bloqueo²⁹.

Tradicionalmente el bloqueo paravertebral se ha realizado con bupivacaina 0.5%^{20, 28,32,33}, pero hay estudios que demuestran que AL a dosis más bajas (bupivacaina 0.25%), asociado a fentanilo o a dexmetomedina³⁴ ofrece una calidad analgésica similar disminuyendo el riesgo de toxicidad en los bloqueos paravertebrales³⁵.

Las complicaciones más frecuentes son:

- Extensión epidural
- Parestesias
- Depresión respiratoria
- Neumotórax

Aunque en la serie analizada estas complicaciones no llegan al 3%.²⁰

5.4 Catéter Epidural

Múltiples estudios han demostrado que el uso de anestésicos locales a través de un catéter epidural reduce el dolor postoperatorio³⁶.

El bloqueo epidural a nivel torácico es una técnica comúnmente utilizada en cirugía estética de la mama pero es raro su uso en mastectomías con cirugía axilar asociada.

Hay estudios que comparan esta técnica con AG en cirugía oncológica de la mama, concluyendo que el prurito es más frecuente en el grupo con catéter epidural, pero presentan menor incidencia de náuseas y vómitos, mejor calidad de analgesia postoperatoria, menor consumo de analgésicos, menor estancia hospitalaria y mayor satisfacción de la paciente³⁷⁻³⁹. En la literatura encontramos también documentada la realización de anestesia epidural cervical para las pacientes sometidas a mastectomía radical modificada⁴⁰. A estas pacientes se les administraba en el espacio epidural a nivel C6-C7 ó C7-T1, a través de una aguja del calibre 18, 10 ml de lidocaína al 1% con adrenalina. Como analgesia postoperatoria se administraba bupivacaína 0.125% a través del catéter epidural. No presentaron complicaciones significativas y un alto porcentaje de pacientes estuvieron despiertas durante la cirugía. Este tipo de anestesia

permite comenzar tolerancia y movilización a las 4h postquirúrgicas, y sus autores lo describen como un proceso con menor morbilidad perioperatoria que la AG. No debemos olvidar sin embargo la dificultad de ésta técnica, las complicaciones sistémicas asociadas y la necesidad de una vigilancia postoperatoria más estrecha.

Esta técnica también está descrita para manejar pacientes que presenten periartritis o dolor crónico regional complejo asociado de la cintura escapular asociado a carcinoma de mama⁴¹.

5.5 Plexo Braquial

El bloqueo del plexo braquial interescalénico se ha empleado para analgesia en la mastectomía radical modificada. Hay estudios que demuestran que este bloqueo mejora el dolor postoperatorio y reduce el consumo de morfina las primeras 24 h⁴².

5.6 Bloqueo de los Nervios Pectorales

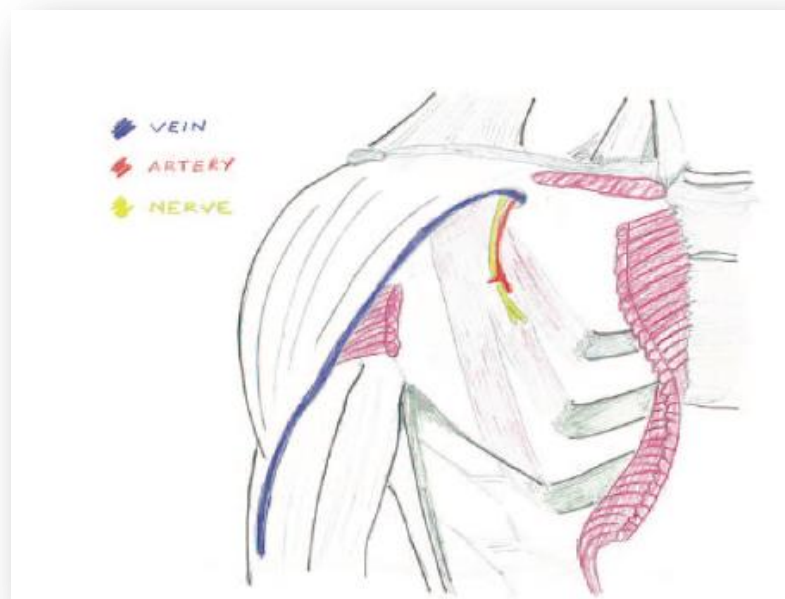
Recuerdo anatómico:

Para entender este bloqueo, descrito por primera vez por Blanco en una publicación de 2011⁴³, es necesario realizar un breve repaso a la anatomía y a la inervación de la mama.

El músculo pectoral mayor se sitúa en la parte anterosuperior del tórax, cubriendo a los músculos subclavios y al músculo pectoral menor. Se inserta proximalmente en la mitad interna de la clavícula en su borde anterior, en la cara anterior del esternón y en los cartílagos de la II a la VI costilla (porción esterno-costal) y finalmente en la hoja anterior de la vaina de los

rectos (porción abdominal). El músculo se inserta en la cara anterior de la cresta del tubérculo mayor del húmero ⁴⁴. Está inervado por el nervio pectoral lateral, que nace del fascículo lateral del plexo braquial, cuyo origen son las raíces C5-C6. Dicho nervio nace junto a la arteria acromiotorácica y la vena cefálica (Ilustración 9).

Ilustración 9: Salida del nervio pectoral lateral desde la fascia clavipectoral junto con la rama pectoral de la arteria toracoacromial y la vena cefálica. Modificado de Haydon.⁴⁵



El músculo pectoral menor es un músculo aplanado de forma triangular formado por tres digitaciones que salen del borde superior de la 3ª, 4ª y 5ª costillas y se insertan en el proceso coracoideo. Está cubierto en su totalidad por el músculo pectoral mayor y su cara profunda reviste medialmente los espacios intercostales, las costillas y el músculo serrato mayor. El músculo

pectoral menor está innervado por el nervio pectoral medial que nace del fascículo medial del plexo braquial, de las raíces C8-T1.

El nervio pectoral medial además innerva el tercio inferior del pectoral mayor junto con el cuarto nervio intercostal (Ilustración 10)⁴⁴.

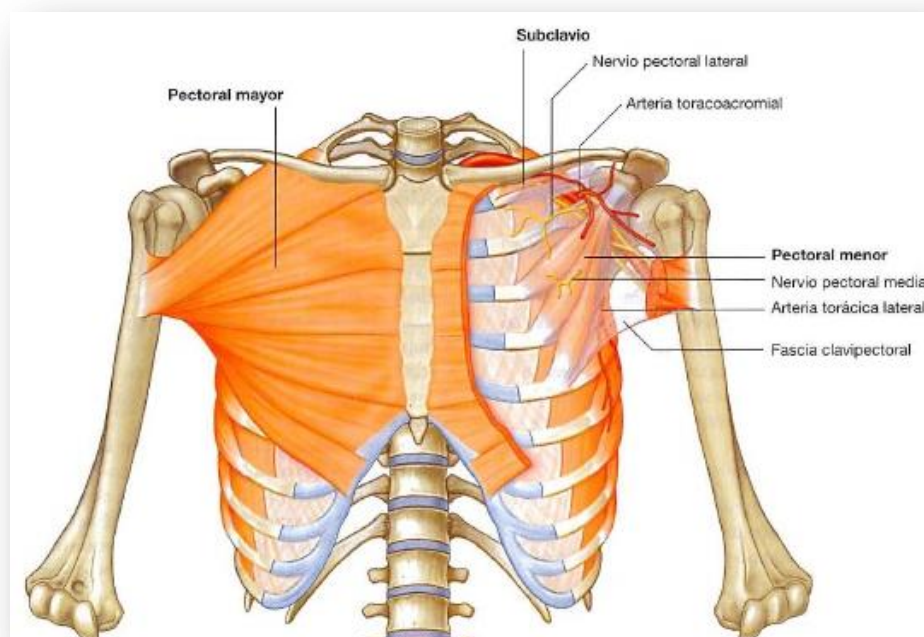


Ilustración 10: Paquete vasculo-nervioso responsable de la innervación de músculos pectorales

Realización del bloqueo:

En este bloqueo el anestésico se inyecta entre el pectoral mayor y el pectoral menor, en el plano interfascial, bloqueando así los nervios pectorales laterales y medianos (Ilustración 10 y 11), proporcionando muy buena analgesia para la inserción de prótesis subpectorales y expansores mamarios⁴⁶.



Ilustración 11: Imagen ecográfica del PEC I

Existe un segundo tipo de bloqueo, el Pecs II o Pecs modificado, con un abordaje diferente, y muy útil en el caso de que se precise vaciamiento axilar, incisiones amplias o extirpación del ganglio centinela.

Para realizar este bloqueo se coloca el transductor debajo del tercio externo de la clavícula a nivel del segundo espacio intercostal, ligeramente oblicuo al eje del cuerpo. Se identifica, en el plano superficial, el tejido celular subcutáneo y el músculo pectoral mayor, en el plano medio el músculo pectoral menor y el músculo serrato anterior y en el plano profundo los músculos intercostales (externo, interno e íntimo), la pleura y el pulmón.

En este caso el anestésico local se inyecta entre el músculo pectoral menor y el serrato, logrando bloquear el nervio torácico largo, el intercostobraquial y las ramas laterales de los nervios intercostales que salen al nivel de la línea medio axilar para inervar la glándula mamaria y la piel de T2 a T6. (Ilustración 12 y 13).

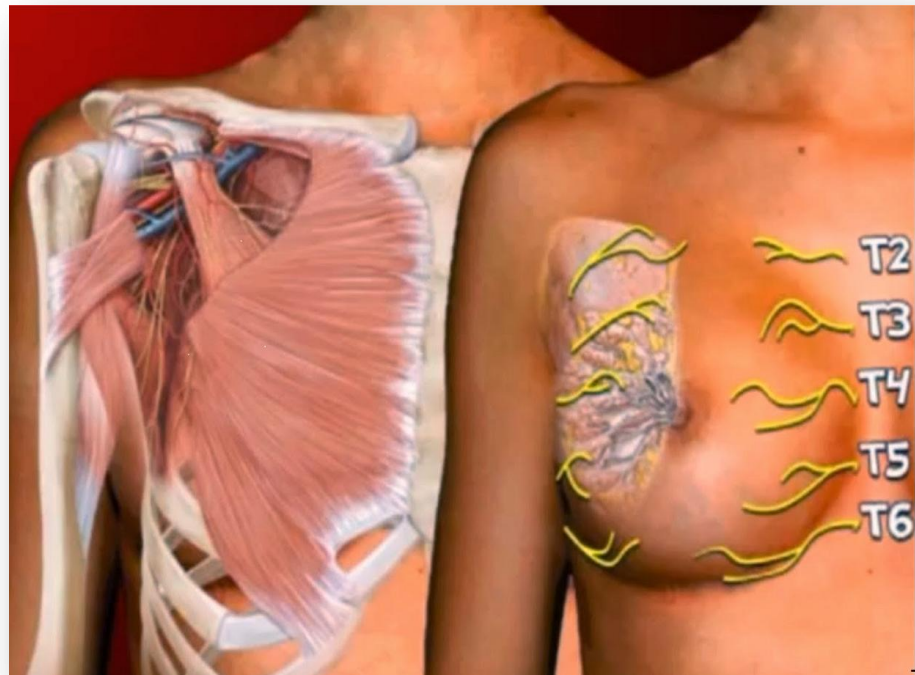


Ilustración 12: Inervación de la mama por nervios intercostales

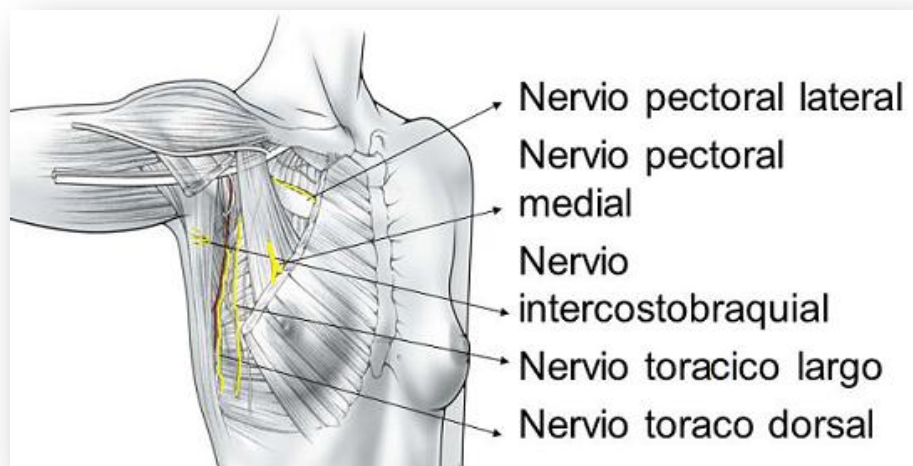


Ilustración 13: Inervación de la axila

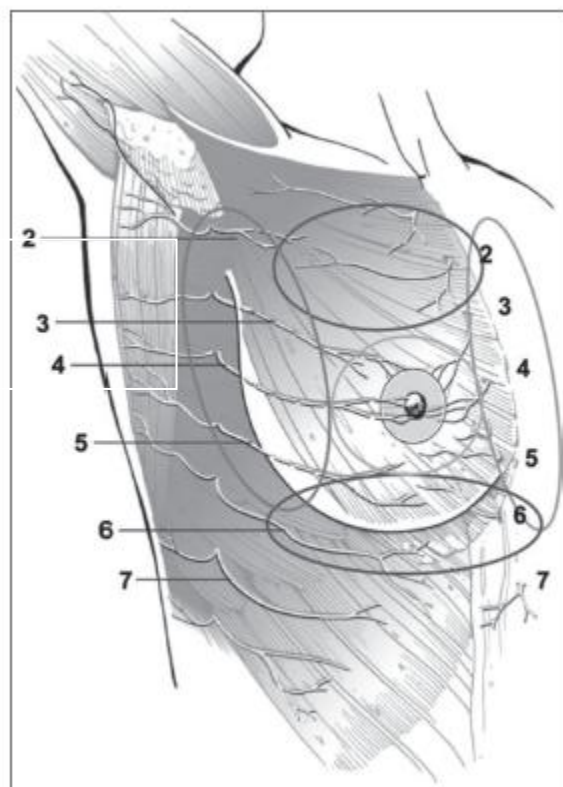


Ilustración 14: Inervación de la mama y de la cara anterior del tórax. Los números representan los nervios intercostales y los círculos las áreas: superior, inferior, medial y lateral.

Si la punción se realiza por debajo del serrato y el anestésico se sitúa entre el músculo serrato y los músculos intercostales, logramos bloquear las ramas cutáneas laterales de los nervios intercostales (BLOQUEO DE LAS RAMAS CUTANEAS LATERALES, O BCRL)

El abordaje se realiza en plano de medial a lateral, posicionando la punta de la aguja entre el músculo serrato anterior y los músculos intercostales externos, disecándose este plano fascial con anestésico local (Ilustración 15).

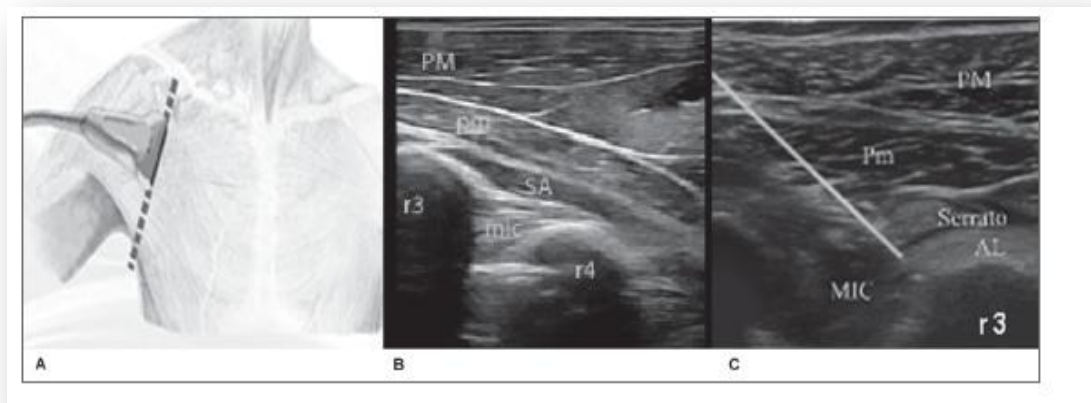


Ilustración 15: Secuencia ecográfica para la realización de bloqueo de las ramas cutáneas laterales. Modificado de Fajardo et al⁴⁷

Si se precisa una buena analgesia del complejo areola-pezones, hay que asociar el BLOQUEO DE LAS RAMAS CUTÁNEAS ANTERIORES, para ello se posiciona el transductor lineal de ultrasonido en la línea paraesternal. En el plano superficial se localiza el tejido celular subcutáneo y el músculo pectoral mayor, en el plano medio los músculos intercostales (externo, interno e íntimo) y la costilla. Se posiciona la punta de la aguja en el plano fascial entre el músculo pectoral mayor y el músculo intercostal externo, para bloquear las ramas cutáneas anterior del nervio intercostal⁴⁷.

Por último existe un bloqueo recientemente descrito en una publicación del 2013, denominado BRILMA, en el que se realiza bloqueo de las ramas intercostales anteriores y laterales 2º a 6º en la línea medio axilar. El anestésico se deposita en el espacio fascial entre el serrato y el intercostal externo (Ilustración 16). Esta técnica se plantea útil para anestesia dentro o fuera de quirófano, como son marcajes tumorales, colocación de arpones o toma de biopsias. Aún no se han publicado estudios sobre pacientes, por lo que se desconoce el volumen necesario para cubrir satisfactoriamente los territorios nerviosos⁴⁸.

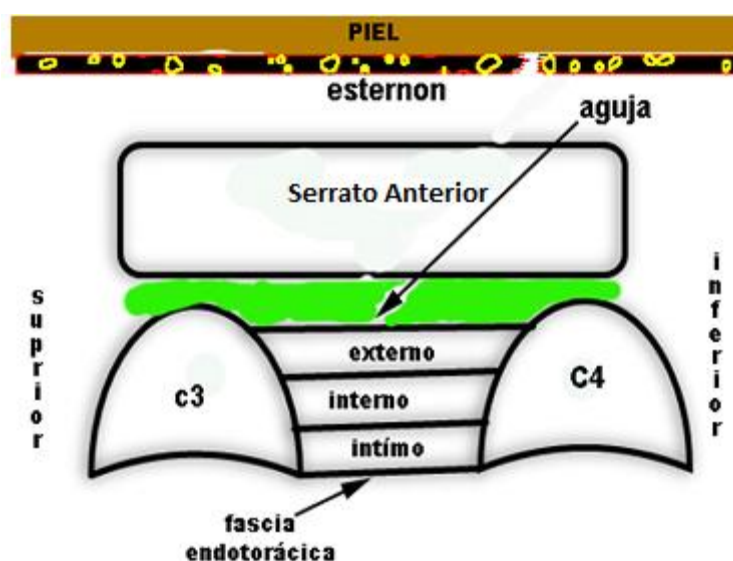


Ilustración 16: Lugar de inyección del anestésico local en el bloqueo BRILMA

Complicaciones:

Las complicaciones más frecuentes de estos bloqueos son la punción vascular de la arteria torácica interna, técnica fallida, laceración muscular y la punción pleural, aunque ésta última es menos frecuente que en el bloqueo paravertebral⁴⁴.

Ventajas de esta técnica:

Esta técnica proporciona muy buena analgesia intra y postoperatoria en la cirugía de mama, logrando así menor consumo de morfíco intraoperatorio, menor incidencia de náuseas y vómitos y puntuaciones menores en la escala de sedación de la unidad de recuperación postanestésica. Además, la estancia hospitalaria es más corta en aquellas pacientes a las que se realizó un PECs⁴⁹⁻⁵¹.

Debemos destacar que es una técnica de dificultad baja para anestesiólogos experimentados en anestesia regional y con una alta tasa de éxitos.

En caso de pacientes en los que no esté indicada la AG, la cirugía de resección mamaria se podría realizar solamente con este bloqueo⁵². Esta técnica ya se está usando en algunos centros de forma sistemática en cirugía mamaria no reconstructiva realizada de forma ambulatoria^{47,48}.

Sin embargo, hay que depurar las características de este procedimiento y se precisan más estudios para aclarar realmente sus ventajas respecto a la AG sin bloqueos asociados⁵².

Existe además cierta evidencia que la utilización de técnicas regionales y la infiltración con AL de la herida quirúrgica podría disminuir el riesgo de desarrollo de dolor crónico tras la cirugía, aunque esta hipótesis necesita ser confirmada con estudios prospectivos⁵³.

6 LA FORMACIÓN DE LAS METÁSTASIS

El origen de las metástasis tumorales depende del balance entre el potencial metastásico del tumor y las defensas anti-metastásicas del huésped.

Su aparición es la culminación de un proceso complejo, que presenta diferentes etapas:

1. Separación de células del tumor sólido, mediante la ruptura de las uniones intercelulares, para ello, muchas veces adquieren propiedades mesenquimales, esto produce cambios en las propiedades de adhesión y activación de la motilidad, lo que permite a las células tumorales establecerse en lugares distantes⁵⁴. En el tejido normal, las células epiteliales se mantienen unidas a las células adyacentes y a la matriz extracelular, de manera si en algún momento se separan de la matriz o de las células vecinas se induce apoptosis. La capacidad de metastatizar requiere la inhibición de este proceso. Sood *et al.* describieron que la

noradrenalina y la adrenalina protegen a las células de cáncer de ovario de la apoptosis e incrementan factores de proliferación⁵⁵.

Esta matriz extracelular está compuesta de colágeno, laminina y fibronectina, presentando funciones de soporte y barrera física. Las células tumorales sintetizan enzimas proteolíticas y originan su degradación. El principal grupo de enzimas proteolíticas son las metaloproteinasas de la matriz (MMP), que además también intervienen en la angiogénesis^{56,57}.

2. Invasión de vasos sanguíneos y linfáticos, logrando separarse y embolizar. La mayoría de estas células serán eliminadas por las defensas del huésped. Pero las que sobreviven llegan a los lechos capilares de los órganos distantes, se extravasan, proliferan y logran desarrollar su propio lecho sanguíneo⁵⁸.
3. Una vez en el torrente sanguíneo, evasión del sistema inmunitario.
4. Adhesión a las células endoteliales.
5. Extravasación desde los vasos sanguíneos o linfáticos.
6. Proliferación e inducción de angiogénesis⁵⁷. Una de las hipótesis de cómo el tumor metastatiza en determinado tejido se denomina “seed and soil” y describe la preferencia de las células tumorales, “seed”, por determinadas localizaciones, “soil”. Los nutrientes llegan inicialmente por difusión, pero más tarde precisa de neovascularización. Los factores angiogénicos son sintetizados y secretados, y una red capilar se forma desde el tejido del huésped adyacente al tumor (Ilustración 17).

Sin vascularización, la masa tumoral se restringe a un área de aproximadamente 0.2 mm, en la que los nutrientes pueden llegar por difusión. Dentro de los mediadores que participan en este proceso de angiogénesis están diferentes factores de crecimiento epidérmico (VEGF-C y VEGF-D)^{54,56,59}, la prostaglandina E2 y las MMP. Las MMPs son reguladoras esenciales durante varias etapas del proceso, desde la rotura de la membrana basal de estructuras vasculares a la proliferación celular, la migración, la angiogénesis, la linfoangiogénesis

y la metástasis. Su secreción se regula por determinadas citoquinas, y se asocian a enfermedad avanzada y mal pronóstico⁵⁶.

Actualmente existen más de 30 genes supresores de metástasis identificados en diferentes cánceres. La pérdida de su función favorece el crecimiento tumoral. Generalmente codifican proteínas relacionadas con la adhesión intracelular, la apoptosis y la invasión⁶⁰. Así mismo, están descritos múltiples microRNA que controlan una amplia variedad de procesos fisiológicos y patológicos, pudiendo afectar a la síntesis de cientos de proteínas.

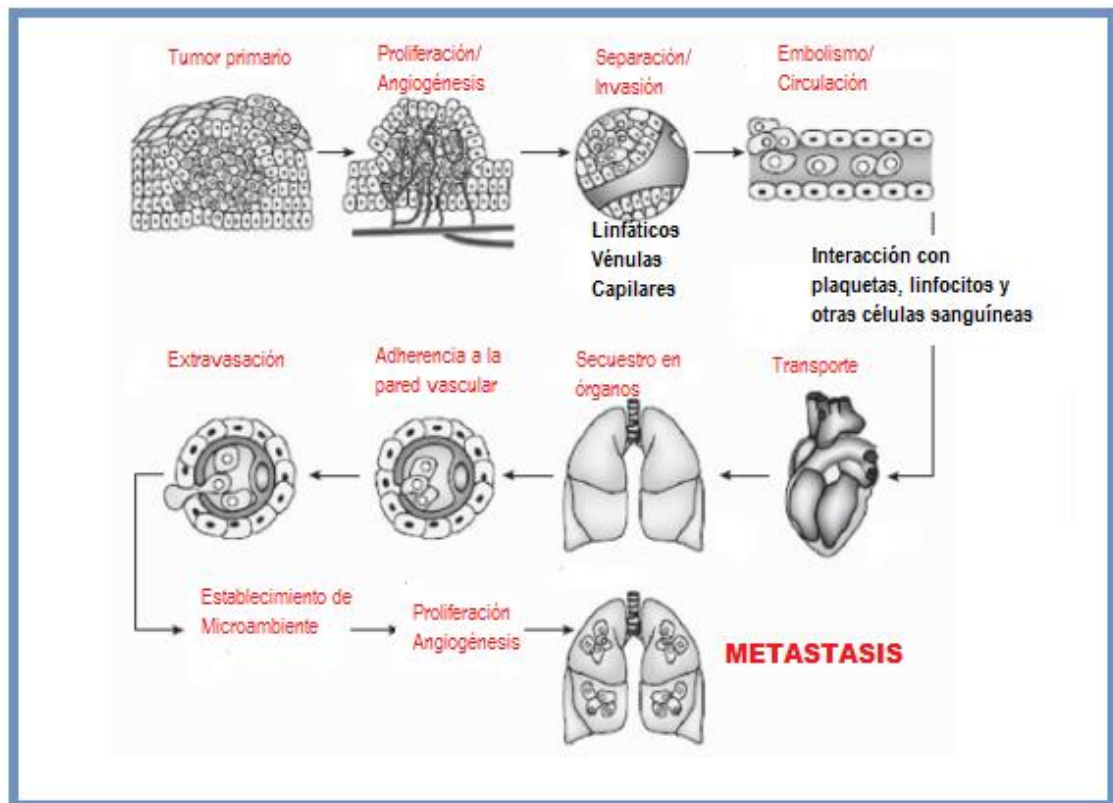


Ilustración 17: Etapas en la formación de metástasis. Modificado de Freeman et al.

Estas células que llegan a los órganos distantes son micrometástasis, y se sabe que sólo desarrollan metástasis en órganos específicos debido a diferentes microambientes biológicamente únicos. El microambiente tumoral presenta una gran variedad de células estromales no malignas (células inmunes, inflamatorias y

hematopoyéticas) que sin embargo juegan un papel esencial en la progresión y metástasis tumoral, como los fibroblastos asociados al cáncer (CAF), que producen factores de crecimiento como IGF (Insulin growth factor) y HIF (Hipoxic Inducible Factor), que favorecen la proliferación celular y la supervivencia de las células cancerígenas, e inhiben la apoptosis celular⁶¹.

El sistema inmune (SI) está modulado por una compleja red de citoquinas, como las interleucinas (IL), Interferones (INT), y Factor de Necrosis Tumoral (TNF). Existen citoquinas que son potentes activadores y atrayentes de leucocitos y otras células inflamatorias, y hay numerosos estudios que han mostrado que las células madre mesenquimales presentan tropismo hacia el microambiente del tumor⁶². Las células tumorales también responden a estas moléculas, existiendo algunas citoquinas que son antitumorales y por lo tanto estimulan el sistema inmune para que elimine a las células cancerígenas, mientras que otras son protumorales y por tanto permiten el crecimiento tumoral⁵⁶. Deegan *et al* demostraron que las pacientes anestesiadas con propofol y con catéter paravertebral, mostraban un ligero aumento de IL-10, cuya función es inhibir la producción de citoquinas proinflamatorias, junto con una reducción importante de MMP3⁵⁶.

Debido al rápido crecimiento tumoral, el microambiente es frecuentemente hipóxico, por lo que el factor hipoxia -1 (HIF-1) aparece, logrando estimular a las células endoteliales y producir angiogénesis⁶¹.

Las células tumorales por sí mismas son el producto de un proceso evolutivo durante el cual mutan al azar y bajo selección o diferentes estímulos. Durante el inicio las células tumorales son muy poco antigénicas y no provocan respuesta inmune. Según mutan más, se vuelven más antigénicas. Ésta es la fase de reconocimiento, eliminación y selección. Al final, el tumor desarrolla mecanismos para evadir la respuesta inmunitaria del huésped⁶³.

Una respuesta inmune intacta es crítica como defensa contra el desarrollo de metástasis.

Las células NK, una población de linfocitos granulares que espontáneamente reconocen y lisan las células cancerígenas, son la respuesta primaria contra las células tumorales^{64,65}. Son activadas por la IL-2 e interferón gamma⁶⁶ y son inhibidas por estrés⁶⁷. Múltiples estudios muestran una relación inversa entre la actividad NK en el momento perioperatorio y el desarrollo de enfermedad metastásica, y se ha demostrado que los pacientes con baja actividad de células NK en el momento de la cirugía desarrollan más metástasis⁶⁷. Existen múltiples estudios que demuestran la facilidad de inducir sarcomas en ratones con déficit de células NK y la protección contra el desarrollo de linfomas tipo B⁶⁷.

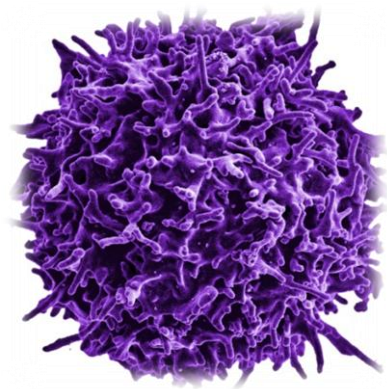


Ilustración 18: Célula NK vista con microscopía electrónica

En modelos animales se ha demostrado que inhiben la formación de metástasis pulmonares⁶⁸. Estas hipótesis también han sido

confirmadas en humanos⁶⁹, tanto en cáncer colorrectal como en pacientes con melanoma⁶⁵.

La función de las células T citotóxicas ha demostrado jugar también un importante papel, así como las células mononucleares y dendríticas, todas con actividad antimetastásica.

La importancia de un sistema inmune normofuncionante se puede demostrar claramente en el contexto de receptores de transplantes de órganos. La terapia inmunosupresora en estos pacientes favorece el desarrollo de metástasis y pacientes con tumores sólidos tienen mayor incidencia de metástasis si están inmunodeprimidos. De hecho las metástasis en ratones inmunocompetentes muestran mutaciones genéticas, pero las que aparecen en ratones inmunocomprometidos provienen de células no mutadas⁷⁰.

La inmunidad celular no erradica el tumor primario, sin embargo, puede eliminar la enfermedad residual. Muchos pacientes pueden tener células cancerígenas residuales en lugares como la médula ósea, pero éstas no llegan a generar una metástasis⁷¹.

Los anestésicos inhalados han demostrado inhibición de las células NK, aumento del HIF, aumento de la angiogénesis y aumento del IGF, mientras que parece que la alternativa anestésica, el propofol, disminuye el HIF, pudiendo tener así un efecto beneficioso en los pacientes⁶¹.

7 INTERLEUCINAS, SUSTANCIA P Y FACTOR DE CRECIMIENTO INDUCIBLE POR HIPOXIA

7.1 Interleucinas

Las citoquinas son proteínas que regulan la función celular tanto de las propias células que las producen como de otras células diana. Son los agentes responsables de la comunicación intercelular, inducen la activación de receptores específicos de membrana, funciones de proliferación y diferenciación celular, quimiotaxis, crecimiento y modulación de la secreción de inmunoglobulinas.

Actúan sobre sus células diana de forma paracrina, autocrina o endocrina y se caracterizan por:

- Ser polipéptidos glicosilados
- Tener actividad biológica a concentraciones muy bajas
- Ejercer sus acciones mediante la unión a receptores de las células diana
- Ser pleiotrópicas, es decir, actúan sobre muchos tipos celulares diferentes y una célula puede expresar receptores para más de una citocina
- Sus efectos pueden ser antagónicos, aditivos o sinérgicos⁷².

Son producidas fundamentalmente por los linfocitos y los macrófagos activados, aunque también por leucocitos polimorfonucleares (PMN), células endoteliales, epiteliales, adipocitos, miocitos y tejido conjuntivo. Según la célula que las produzca, se denominan linfocinas (linfocito), monocinas (monocitos, precursores de los macrófagos), adipoquinas

(adipocitos), miocinas (células musculares o miocitos) o interleucinas (células hematopoyéticas).

Su acción fundamental consiste en la regulación de la inflamación, habiendo así citoquinas pro-inflamatorias y anti-inflamatorias. Algunas de estas citoquinas, con efecto inhibitorio del sistema inmune, son las responsables de que el tumor se pueda desarrollar, promoviendo el crecimiento y la agresividad tumoral, y al contrario, algunas de ellas han demostrado que promueven la actividad de células anticancerígenas, como las células dendríticas, causando inhibición tumoral⁷².

En el microambiente tumoral no solamente existen células tumorales, sino también células estromales como fibroblastos, y células endoteliales, así como células inflamatorias que incluyen neutrófilos, macrófagos y linfocitos. Por lo tanto, todas estas células originan un entorno rico en citoquinas, que regulan la llegada de leucocitos y de otras células inflamatorias, que juegan papeles pro o antitumorales⁷³. Cada vez existe mayor evidencia del importante papel que juegan las IL en el ámbito tumoral, de manera que el tumor progresará rápidamente si el microambiente es favorable o bien las células tumorales permanecerán quiescentes cuando el microambiente no tenga las condiciones adecuadas. Aunque existen muchas investigaciones en curso, los mecanismos moleculares aún son desconocidos⁷⁴.

Así, en este grupo se incluyen el TGF- β , TNF e IL-1, IL-6; IL-10; IL-12 e IL-18 y el INT, todos con un papel crucial para controlar la respuesta inmune. El tumor, de forma directa o indirecta, origina cambios en las citoquinas que afectarán al curso de la enfermedad.

Un resumen de la acción de las interleucinas se expone en la tabla I.

IL-2:

La IL-2 se considera un factor de crecimiento para los linfocitos T. La producen fundamentalmente los linfocitos CD4+ y estimula las células T y la proliferación de células B activadas, aumentando la secreción de citoquinas por parte de las células T y la citotoxicidad de las NK. En pacientes con neoplasias sólidas esta disminución como una de las disfunciones más frecuentes.

INTERLEUCINAS	Efecto- Acción
TNF-α	Inhibe el crecimiento y favorece la apoptosis de células tumorales in vitro
TGF-β	↑ en cáncer avanzado
IL-2	↓ en recidivas
IL-6	↑ en metástasis Niveles ↑ se asocian a menor supervivencia
IL-8	↑ avanza la enfermedad
IL-10	Puede inhibir el crecimiento tumoral
IL-12	Induce destrucción tumoral en modelos animales

Tabla I: Principales acciones de las IL

Por lo tanto, la expresión de IL-2 en el microambiente tumoral estimula la inmunidad porque genera linfocitos T activos y además porque permite la infiltración de estos linfocitos en la masa tumoral. Aunque la IL-2 se ha utilizado con resultados positivos en diferentes tipos de tumores, como melanoma, metástasis pulmonares de carcinoma renal, mesoteliomas y tumores de páncreas, en el cáncer de mama no ha demostrado eficacia. Existen estudios que asocian esta IL con agentes quimioterápicos, pero los resultados no son aún concluyentes.

IL-3:

La IL-3 se produce en las células T activadas y en mastocitos, y favorece la producción, diferenciación y función de los granulocitos y macrófagos. Se ha documentado la sobreexpresión del receptor de la IL-3 en algunas poblaciones de leucemia mieloide crónica, y ya se usan fármacos frente a este receptor con resultados prometedores⁷⁵.

IL-6:

La IL-6, también llamada factor estimulador B o interferón beta 2 (INT- β 2), es producida por monocitos, macrófagos, linfocitos, células endoteliales y células del epitelio intestinal⁷². Su expresión se induce a partir de la IL-1, el TNF y el factor activador de plaquetas. Participa en diferentes funciones biológicas, incluyendo la diferenciación de los linfocitos B, estimula la proliferación y diferenciación de células T y estimula el eje hipotálamo-pituitario-adrenal para inducir la producción de reactantes de fase aguda⁷⁶. Recientemente, se ha observado que la IL-6 es secretada por los macrófagos asociados a tumor (TAM) en el carcinoma hepatocelular, siendo importantes para los procesos de metástasis tumoral. Algo similar ocurre en el cáncer

colorectal y en la malignización de células madre mesenquimales en ratas.⁷⁴

IL-10:

La IL-10, denominada inicialmente factor inhibitorio de la síntesis de citoquina, es otra citoquina inmunomoduladora implicada en procesos antiinflamatorios. La producen fundamentalmente las células Th2, y los monocitos activados.

Esta citoquina podría ser inmunosupresora o immunoestimuladora en función de su concentración en el microambiente local, y es un potente modulador de la función de los monocitos/macrófagos.

También disminuye la expresión del MHC II en los macrófagos, inhibe su función como presentadores de antígenos y favorece que los linfocitos CD4+ naive viren a fenotipo Th2, disminuyendo la secreción de TNF- α y de IL-2 por los linfocitos TH1 activados, e inhibiendo la activación y la proliferación de células T⁷².

Algunos estudios demuestran que podría inhibir el crecimiento y la diferenciación de células madre neurales hacia células cerebrales adultas⁷⁷, acción diferente a la antiinflamatoria, bien conocida.

La IL-10 ha demostrado también tener potente actividad antitumoral. La administración de IL-10 a animales con tumores mamarios supuso una inhibición del crecimiento debido a un aumento de linfocitos CD4+, tal como demostraron Dorsey *et al*⁷⁸. Otros autores han demostrado la actividad antimetastásica mediante la disminución de la expresión del MHC clase I en las células tumorales, y por lo tanto facilitando su destrucción por las células NK⁷⁸.

De manera que esta IL presenta una doble actividad en función de su concentración, a bajas concentraciones favorece el crecimiento tumoral, pero a altas concentraciones tiene una actividad antitumoral importante.

IL-11:

La IL-11, interviene en la megacariocitopoyesis, producción plaquetaria, activación de osteoclastos e inhibición de proliferación de células epiteliales y apoptosis. Clínicamente, se ha demostrado que puede disminuir la incidencia de la enfermedad de injerto contra huésped, inducida por el trasplante de células hematopoyéticas⁷⁴.

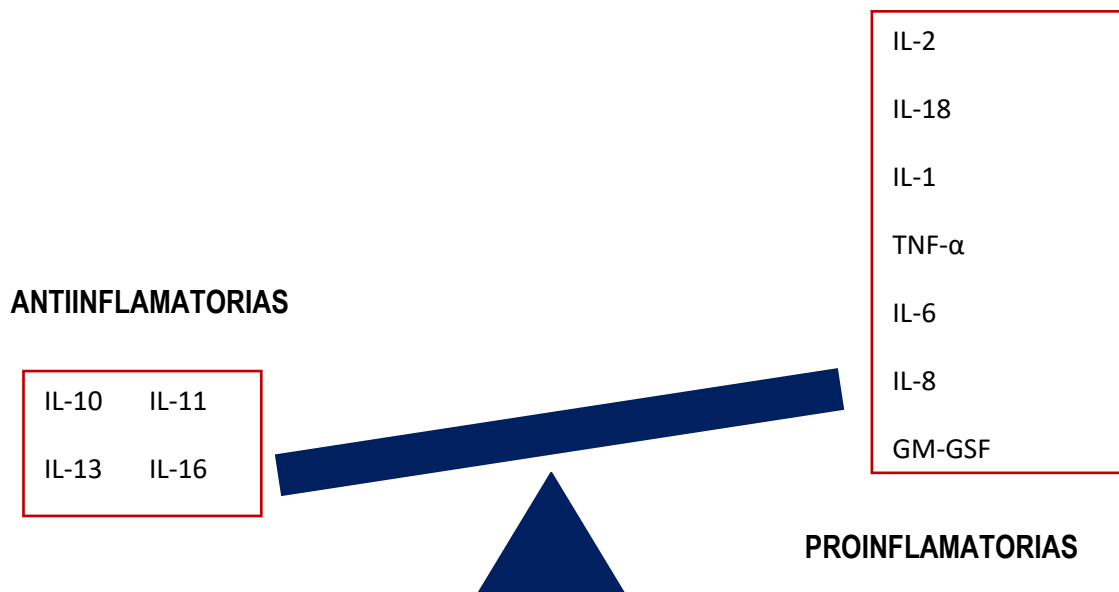
IL-12:

La IL-12, factor estimulador de células NK o factor de maduración de los linfocitos, también está producida fundamentalmente por monocitos y macrófagos. Es un factor esencial para el inicio de la inmunidad celular y tiene múltiples efectos sobre las células T y las NK. Favorece el viraje de células T a Th1, aumentando la diferenciación y la activación de las células T citotóxicas, y favoreciendo la producción de INT- α por las células T y NK, habiéndose demostrado su actividad antitumoral en modelos animales.

Su función es antagonizada principalmente por la IL-10 .

IL-18:

Por último, la IL-18, descrita más recientemente, es un importante regulador de las respuestas inmunes innatas y adquiridas. También se denomina factor inductor del interferon alfa (IGIF), juega un papel importante en la respuesta Th1, fundamentalmente por su habilidad para inducir la producción de INT α por las células T y NK. Esta IL es producida en las fases iniciales en la respuesta inmune por los macrófagos, y también induce la producción de GM-CSF y expresión de IL-1. Además, actúa conjuntamente con IL-12. Nakata *et al* encontraron que la IL-18 inhibe el crecimiento de las lesiones osteolíticas y suprime las metástasis óseas tempranas⁷⁹.



7.2 Factor Inducible por la Hipoxia

La hipoxia o deficiencia de aporte de oxígeno a los tejidos, se asocia a una serie de situaciones fisiopatológicas, incluido el cáncer.

El medio hipóxico activa una cascada señalizadora que induce o reprime la transcripción de muchos genes implicados en la angiogénesis, la metástasis, el metabolismo de la glucosa, en definitiva, la supervivencia o muerte celular^{54,80}.

El factor que regula la adaptación del tumor a la hipoxia es fundamentalmente el Factor Inducible por Hipoxia (HIF).

El HIF en condiciones fisiológicas es esencial para la adaptación celular al medio. Así, las células mieloides presentan vías de activación dependientes del HIF para poder ejercer su acción en microambientes hipóxicos, y sin estas vías no podrían eliminar de forma eficaz los patógenos. Permiten a las células generar ATP en tejidos inflamados deprivados de oxígeno, y prolonga la vida de los neutrófilos en condiciones hipóxicas inhibiendo la apoptosis y favoreciendo la resolución de los episodios inflamatorios⁸¹. Se ha demostrado que en ratones con déficit de HIF la actividad bactericida está disminuida en células mieloides, y la diseminación sistémica de la infección no se puede evitar⁸¹.

Sin embargo, en las situaciones de malignidad el HIF se convierte en un factor que regula la angiogénesis y la proliferación^{61,81}, mediante la expresión de diferentes genes (de proliferación, apoptosis, regulación del pH, metabolismo del hierro, eritropoyesis, matriz extracelular, inflamación, metabolismo de la glucosa, angiogénesis...) ⁸⁰ permitiendo a las células sobrevivir en condiciones que en principio son desfavorables. Se ha demostrado que los tumores se desarrollan

preferentemente en las regiones hipóxicas, donde las células malignas logran convertir este ambiente hipóxico en un mecanismo beneficioso que favorece la progresión tumoral.

Bodawska *et al.* demostraron que la expresión de HIF es más abundante en cánceres de mama que presentaban alto grado de agresividad y peor pronóstico, pudiendo considerarse un indicador de agresividad en cánceres invasivos⁸².

Se ha demostrado que los tumores malignos no solamente pueden inducir el proceso de angiogénesis, sino que los más vascularizados tienen, además, una alta tendencia a metastatizar, mientras que en los poco vascularizados esta tendencia es mucho menor⁵⁴.

La activación del factor HIF es regulada a diferentes niveles, siendo el estímulo principal los cambios intracelulares de oxígeno⁵⁴, de manera que aparece cuando el nivel de oxígeno en los tejidos es bajo y no funciona cuando dicho nivel se eleva⁸³, aunque es un proceso muy complejo.

Se han identificado más de 100 genes cuya expresión viene activada por el HIF. Se estima que entre el 1 y el 5% de todos los genes humanos se expresan en respuesta a hipoxia de manera dependiente del HIF, y que entre otros, codifican genes de proteínas angiogénicas, transportadores de la glucosa, enzimas glucolíticos y múltiples factores que influyen en la supervivencia y en la invasividad. Estos genes, a su vez, aumentan la expresión del HIF, aumentando la densidad y permeabilidad vascular y por tanto el crecimiento y la propagación del tumor.

Además, en la hipoxia, la activación del factor HIF está asociada con la pérdida de la expresión de las moléculas de adhesión celular (E-cadherinas), favoreciendo por tanto la separación de las células tumorales de la matriz extracelular.

El aumento de HIF en algunos tumores es tan alto que sobrepasa la capacidad de degradación, esto junto con el aumento del VEGF puede llegar a ser un punto gatillo para que las metástasis quiescentes inicien procesos de angiogénesis.

Sin embargo, el hallazgo de altos niveles de HIF en neoplasias como la leucemia aguda linfática, en la que aparentemente no existe hipoxia, sugiere que el papel de HIF es más complejo y que posiblemente intervenga en la adaptación metabólica de los tumores, ejerciendo un efecto protector sobre las células tumorales, ya que se relaciona con mayor agresividad tumoral y con resistencia a radioterapia y quimioterapia⁵⁴. Existen evidencias experimentales que indican que la inhibición del HIF en la zona central del tumor, la más inflamada, atenúa el crecimiento y la vascularización tumoral, y favorece su sensibilidad a la radiación⁸¹.

En el tumor pueden existir áreas de hipoxia aguda y crónica. La primera se encuentra cerca de los vasos sanguíneos, lo cual hace que las células tumorales tengan acceso a ellos de forma directa. Además, los vasos tienden a localizarse en la periferia de los tumores, por lo que la hipoxia aguda promueve en la periferia del tumor la invasión y la migración de las células tumorales vía ganglios linfáticos, incrementando las metástasis.

Tanta importancia tiene el HIF que se ha convertido en un objetivo importante de las terapias oncológicas, habiéndose desarrollado diferentes agentes que interfieren en la expresión, la degradación o su capacidad transcripcional, siendo éste el objetivo de numerosos estudios^{80,82,83}.

7.3 Sustancia P

La sustancia P (SP) es un neuropéptido especialmente involucrado en la percepción del dolor, que actúa como neuromodulador y neurotransmisor. Es sintetizada por diferentes células, y regula procesos como la secreción exo- y endocrina, proliferación del tejido conectivo y presión sanguínea. Además regula procesos inflamatorios y la respuesta inmune en tejidos tanto periféricos como en el SNC⁸⁴.

Fue detectada por primera vez en 1931 por Ulf von Euler y John H. Gaddum en extractos de cerebro e intestino. Estos se prepararon como polvos (powder) de donde proviene el nombre "P", y fue purificada y sintetizada en 1971.⁸⁵ Su acción es mediada a través del receptor de la neurokinina 1.(NK-1r)

Hay numerosos estudios que sugieren que este receptor junto con la SP pueden tener un papel importante en el desarrollo del cáncer, ya que la unión SP- NK1r, induce proliferación tumoral, angiogénesis y migración, pasos críticos para la invasión celular y la metástasis⁸⁴, y porque los antagonistas del receptor tienen una acción antitumoral⁸⁶.

Existen varios estudios que han demostrado que la cantidad de SP-NK1r en el tumor está asociada al grado de malignidad⁸⁴ y que describen la acción inhibitoria sobre tumores de los antagonistas de los receptores NK1, demostrando que inducen apoptosis, inhiben la migración y muestran actividad antitumoral.

Y lo que es más interesante, en pacientes que recibieron anestésicos locales para el tratamiento del dolor, los niveles de SP se encontraban disminuidos, demostrando que existe cierta asociación entre anestésico local, SP y progresión de cáncer^{86, 87}.

8 EFECTO DE LA CIRUGÍA SOBRE LA RECURRENCIA DEL CÁNCER

Tal como se ha comentado previamente, pese a que el tratamiento quirúrgico es la mejor opción para aumentar la supervivencia en muchos tumores sólidos⁶¹, tras la resección es frecuente que quede una enfermedad residual, como depósitos microscópicos en los márgenes quirúrgicos o bien micrometástasis. Por otra parte, la cirugía per sé puede tener un papel esencial al liberar células tumorales a la circulación⁸⁸, constituyendo la presencia de éstas en sangre periférica en el momento de la cirugía un importante factor pronóstico independiente de otros parámetros⁸⁸.

Hay datos que sugieren un efecto diferencial de los agentes anestésicos sobre el crecimiento de células cancerígenas⁶¹.

Múltiples estudios en humanos han demostrado que la cirugía por sí misma puede favorecer el desarrollo de metástasis al inhibir por ejemplo la actividad de las células NK^{89, 90}.

Se han propuesto al menos cuatro mecanismos principales que favorecen la aparición de metástasis tras la cirugía:

1. La manipulación del tumor durante la cirugía libera células tumorales a la circulación. Con PCR podemos detectar células tumorales en el torrente sanguíneo, y su número aumenta tras la cirugía⁸⁸.
2. La presencia del tumor primario podría por sí mismo inhibir la angiogénesis, y por tanto la retirada podría favorecer el crecimiento de la enfermedad residual
3. La liberación local y sistémica de factores de crecimiento durante la cirugía podría favorecer la recurrencia del tumor tanto localmente como a distancia. Los niveles de EGF, VEGF y de TGF β están incrementados. Además, los factores antiangiogénicos como la angiostatina y endostatinas podrían estar disminuidos por la cirugía⁶⁴.

4. Existe inmunosupresión perioperatoria, incluyendo la inmunidad celular. Esto es el resultado de la respuesta del sistema neuroendocrino y de las citoquinas al estrés, de la técnica anestésica y de otros factores perioperatorios⁹¹, por eso se están asociando cirugías menos invasivas (laparoscópicas) con mayor supervivencia en los pacientes⁹². Esta inmunosupresión puede ser responsable de la recurrencia de enfermedad incluso en situaciones en las que la resección del tumor primario sea exitosa⁹³.

A los factores anteriores, hay que sumarles el resto de situaciones que pueden favorecer la inmunosupresión perioperatoria:

- A. La cirugía *per sé*
- B. El dolor
- C. La necesidad de transfusión
- D. El estrés físico y psicológico asociado a la cirugía
- E. Hipotermia
- F. Los fármacos utilizados: agentes inhalatorios, propofol, opiáceos, antiinflamatorios no esteroideos
- G. El uso o no de anestesia regional

A. La cirugía *per sé*:

Aunque la respuesta inmediata al trauma quirúrgico es un aumento en el número de células NK, éste es seguido por una reducción postoperatoria a niveles que pueden llegar a estar por debajo de la normalidad. Durante la activación del sistema simpático, aunque aumenta su número, se deprime su función. Sin embargo, la evolución de ese proceso no está aún totalmente clara.

La cirugía mayor suprime la inmunidad celular durante varios días, pero la inmunidad humoral permanece relativamente intacta. Hay una importante disminución en la producción de las citoquinas que favorecen la inmunidad celular como la IL-2; IL-12 y el INT- γ , y un aumento en la

producción de citoquinas que interfieren con la inmunidad celular, como la IL-10. Hay una disminución en el número de células NK circulantes, células T citotóxicas, células dendríticas y T-helpers^{91,93}. La inmunosupresión alcanza su nivel más alto el tercer día, y seguramente será el momento en el que la enfermedad residual pueda crecer y diseminarse. La inmunidad celular puede disminuir la aparición de metástasis aunque no sea capaz de eliminar el tumor primario.⁹⁴

Tras la cirugía se produce una reacción inflamatoria que asocia un aumento de citoquinas proinflamatorias tanto a nivel local como plasmático (TNF- α ; IL-1b, IL-6, IL-12, IL-15, IL-18, INT- γ), cuyo objetivo es reparar los tejidos. Esta inflamación se asocia a inmunosupresión y a proliferación tumoral⁹⁵. Esta es la razón de que las recurrencias tumorales sean más frecuentes en las incisiones quirúrgicas o en las anastomosis. Abramovith *et al.* demostraron el efecto estimulador del fluido obtenido de la herida en la angiogénesis tumoral y el efecto directo sobre la proliferación tumoral⁹⁶.

B. El dolor se asocia a liberación de catecolaminas y de SP a nivel periférico, relacionados con proliferación de células cancerígenas. Toda la respuesta al dolor es similar y se suma a la del estrés quirúrgico (ver apartado D).

C. La necesidad de transfusión:

Que la transfusión tiene efectos inmunosupresores se conoce desde los años 70, cuando Opelz *et al.* propusieron la idea de la inmunomodulación relacionada con la transfusión (TRIM) al darse cuenta de que los pacientes sometidos a trasplante renal que recibían más de diez concentrados de hematíes presentaban mayor supervivencia del injerto.

Este fenómeno está asociado a una inmunosupresión de linfocitos T citotóxicos y de monocitos, liberación de prostaglandinas inmunosupresoras, inhibición de producción de IL-2 y aumento de la actividad de células T.

Por tanto, parece claro que mejorar las estrategias de transfusión o utilizar un criterio más restrictivo puede llegar a mejorar el pronóstico del cáncer, pero aunque esta teoría se ha intentado probar no se ha llegado a demostrar^{97,98}

Tampoco se ha podido probar que la transfusión de sangre desleucocitada o almacenada durante menos tiempo pueda afectar a la supervivencia⁹⁸.

D. El estrés físico y psicológico asociado a la cirugía:

Someterse a una cirugía es una de las situaciones más estresantes que puede sufrir un individuo, y se asocia a un aumento de la liberación de catecolaminas intra y postoperatorias⁹³.

Por supuesto, el grado de estrés depende de la magnitud de la cirugía y de las técnicas anestésicas y analgésicas⁹⁹.

Tras procedimientos quirúrgicos menores, el número de células NK no varía, pero tras procedimientos mayores y muy agresivos, tanto las células NK como los linfocitos NK presentan recuentos menores⁹⁹. Diversos estudios realizados por el grupo de Ben-Eliyahu han puesto de manifiesto que la inmunosupresión perioperatoria contribuye al crecimiento tumoral y al desarrollo de metástasis^{90,99,100}. Además se ha visto que el bloqueo del receptor β adrenérgico reduce la inmunosupresión y la aparición de metástasis pulmonares en ratones¹⁰¹, sin embargo Murray *et al* en 1996 publicaron que la inyección de un β agonista como el isoproterenol en un modelo de isquemia miocárdica produce aumento en el número de células NK¹⁰².

Una respuesta proinflamatoria descontrolada puede llegar al Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS), que se traduce en descompensación hemodinámica y fallo multiorgánico.

Por otra parte el estrés quirúrgico puede ser inmunosupresor a través de diferentes mecanismos, siendo dicha inmunosupresión la explicación al mayor crecimiento tumoral en situaciones de estrés^{87,103,104}. Sin embargo, el mecanismo por el cual esto sucede

permanece sin demostrar. Podría derivar de la suma de las consecuencias metabólicas del estrés y de mecanismos inmunológicos¹⁰³. Ha sido relacionado con una retención incrementada de virus en los tejidos, con disminución del número de linfocitos circulantes y de la respuesta mitogénica *in vitro* que es un mecanismo potente para la eliminación de células tumorales.

Investigaciones realizadas en humanos y en animales de experimentación han revelado que el estrés puede afectar a la respuesta inmune tanto humoral como celular¹⁰⁵⁻¹⁰⁸. Las condiciones estresantes pueden suprimir profundamente la respuesta inmune de los linfocitos sanguíneos, incluyendo la respuesta a mitógenos de las células T, actividad de las células NK, producción de IL -2 e IFN y la expresión del receptor de IL-2, así como otros aspectos de la respuesta inmune celular y humoral¹⁰⁹⁻¹¹¹.

Mientras que la mayoría de las condiciones estresantes suprimen las respuestas inmunes, condiciones de moderada intensidad también pueden incrementar dicha respuesta¹¹⁰⁻¹¹².

El estudio de las interacciones entre el sistema nervioso central (SNC) y el sistema inmune ha mostrado una vasta red de vías de comunicación entre estos 2 sistemas. El sistema nervioso simpático (SNS), el cual inerva extensamente los órganos linfoides estableciendo conexiones anatómicas entre los sistemas nervioso e inmune, regula la función del sistema inmunitario principalmente por la vía de neurotransmisores adrenérgicos liberados a través de rutas neuronales¹¹³. Las células inmunes accesorias y los linfocitos tienen receptores de membrana para la mayoría de los neuropéptidos y neurotransmisores como la norepinefrina, el principal neurotransmisor liberado en las terminaciones nerviosas simpáticas, y estas células responden a agonistas adrenérgicos, así como a otros neurotransmisores. Estos receptores son funcionales y su activación conduce a cambios que incluyen la proliferación celular, la quimiotaxis y las respuestas inmunes específicas¹¹³.

Por lo tanto, el SNC da señales hormonales y neuronales al sistema inmune y éste al SNC a través de polipéptidos producidos por esas células inmunes. La principal vía hormonal a través de la cual el SNC ejerce su regulación es el eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) a través de las hormonas de la respuesta neuroendocrina de estrés^{86,114–116} que incluye glucocorticoides, catecolaminas y neuropéptidos secretados por terminaciones nerviosas simpáticas y la medula adrenal, hormonas pituitarias y señales originadas en monocitos y macrófagos, fundamentalmente citoquinas proinflamatorias¹¹³.

Señales hormonales

Se ha demostrado que las hormonas pituitarias ejercen efectos sobre las células del sistema inmune que pueden ser de incremento de la función inmune o de inhibición de ésta. En animales hipofisectomizados la respuesta autoinmune, la inmunidad mediada por células y la mediada por anticuerpos queda afectada o interrumpida por completo, y se puede restaurar con tratamiento con prolactina¹¹⁷. Asimismo la GH es necesaria para en la maduración y funcionamiento adecuado del sistema inmune.

La melatonina tiene un efecto “antiestrés”, actuando sobre células activadas por antígeno, lo que apunta hacia una posible regulación positiva de la respuesta inmune que se encuentra suprimida bajo condiciones estresantes¹⁰⁴.

En la otra cara, la ACTH (hormona adrenocorticotropa), se libera de la pituitaria debido a la acción del factor liberador de corticotropina, producido en los núcleos paraventriculares del hipotálamo, y origina liberación de glucocorticoides de la corteza adrenal, que puede durar desde días previos al momento quirúrgico hasta varios días después¹¹⁵. Los corticoides disminuyen la absorción de glucosa en tejido periférico, al disminuir la afinidad de los transportadores de almacenamiento

intracelular y la transcripción de los transportadores. El resultado de ésta y otras acciones glucocorticoideas (como el aumento de la gluconeogénesis) es el aumento de la glucosa en sangre.

Las células tumorales son capaces de aumentar la absorción y la utilización de la glucosa entre 5 y 10 veces al aumentar la transcripción de los transportadores, a diferencia de las normales. Esta transformación es una de las más tempranas en las células tumorales, necesaria para cubrir la gran demanda de energía necesaria para el crecimiento neoplásico¹⁰³.

La ACTH también actúa directamente sobre los linfocitos, provocando un cambio de respuesta de tipo T helper1 (Th1), que favorecen la respuesta inmune celular, a T helper 2(Th2)¹¹⁸, que favorecen la humoral.

Señales humorales: Citoquinas

Durante la respuesta inmune las citoquinas son liberadas por los linfocitos activados y por los macrófagos.

Estas citoquinas proinflamatorias producidas en la periferia actúan sobre el cerebro por dos vías principales:

- una vía humoral, que permite a los patógenos específicos actuar sobre receptores *toll-like* en aquellas áreas del cerebro que están desprovistas de una barrera hematoencefálica funcional, las así llamadas áreas circunventriculares, y
- una vía neural, representada por los nervios aferentes que inervan los sitios corporales de infección y daño.

En ambos casos, las citoquinas periféricas inducen la expresión de citoquinas cerebrales que son producidas por macrófagos residentes y células microgliales.

Estas citoquinas producidas localmente se difunden a través del parénquima cerebral y actúan sobre áreas cerebrales para organizar los componentes centrales de la respuesta del huésped a la infección ¹¹³.

La IL-1 y TNF actúan sobre el hipotálamo para producir fiebre, presumiblemente debido a que existen receptores para estas citoquinas en las neuronas hipotalámicas¹¹⁹.

Algunos estudios han revelado que el cerebro produce IFN- α en respuesta al estrés inflamatorio así como al no inflamatorio, lo que podría desempeñar un papel en la fisiología normal. El IFN- α puede alterar la actividad cerebral para ejercer efecto de retroalimentación sobre el SI ¹²⁰.

Por lo tanto, el estrés quirúrgico y la presencia de una respuesta inflamatoria exagerada puede inducir inmunosupresión que contribuiría al desarrollo tumoral.

Las técnicas analgésicas y anestésicas que disminuyan el estrés podrían por tanto evitar el deterioro de la función inmune y mejorar el pronóstico a largo plazo de pacientes sometidos a cirugía oncológica.

E. Hipotermia:

La hipotermia que los pacientes pueden sufrir durante la cirugía también influye en la actividad del sistema inmune, y por tanto favorece la recurrencia tumoral.

Incluso la hipotermia moderada de menos de 1 grado aumenta la pérdida sanguínea de manera significativa y el riesgo relativo de transfusión más de un 20%¹²¹, al aumentar el sangrado y alterar la coagulación, aumentando también la inmunosupresión consiguiente. Las transfusiones sanguíneas se asocian además a una reducción de las células Th y NK ¹²².

Kurz *et al.* demostraron que el mantenimiento de la normotermia periquirúrgica es más eficaz para evitar infecciones que los antibióticos perioperatorios, acortando por tanto la hospitalización¹²³.

Sin embargo, pese a los esfuerzos, hay poco control de la temperatura perioperatoria y hay estudios que demuestran que casi la mitad de los pacientes sometidos a cirugía abdominal llegan a la sala de recuperación hipotérmicos y hasta un tercio de ellos continúan con esta hipotermia allí⁹⁸.

F. Los fármacos utilizados. Ver punto 9

G. El uso de anestesia regional. Ver punto 10

9 FÁRMACOS UTILIZADOS EN LA ANESTESIA GENERAL Y CÁNCER

Aunque la anestesia puede ser considerada segura hoy en día, muchas de las prácticas habituales se realizan sin conocer realmente el alcance de las consecuencias que producen. Pese a que se ha publicado en varias ocasiones que la invasión o las metástasis se favorecen durante el procedimiento quirúrgico, se desconoce claramente el motivo y la posible influencia de los fármacos anestésicos y de las diferentes técnicas sobre las células tumorales, la recidiva, la aparición de metástasis y por tanto la supervivencia¹²⁴.

9.1 Sevoflurano

Actualmente es el agente halogenado de elección en anestesia. Muchos estudios han demostrado que los anestésicos volátiles reducen la respuesta inflamatoria local y sistémica durante la cirugía, inhibiendo la respuesta al estrés¹²⁵. Algunos estudios en animales han demostrado que los agentes volátiles pueden inducir inflamación neuronal, que puede llevar a alteración de funciones cognitivas en roedores y posiblemente en humanos¹²⁶, aunque en estudios en ventilación unipulmonar han demostrado disminuir la inflamación cuando se compara con propofol¹²⁷.

Kvolilk *et al.* estudiaron, *in vitro*, el efecto de este agente sobre diferentes líneas tumorales (Caco-2; Hep-2, MIA PaCa-2, SW-620 y Wi-38), demostrando como este agente anestésico modifica el crecimiento de las células tumorales de forma tiempo-dependiente. Algunas líneas celulares reducían su crecimiento tras 6h de exposición al gas, otras, como Hep-2, aumentaban su crecimiento en las primeras 2 h y después lo reducían de forma significativa, mientras que había otras líneas celulares que no

presentaban cambios significativos en su crecimiento¹²⁸. En otras palabras, el sevoflurano expresa un marcado efecto inhibitorio en la mayoría de las líneas, lo que podría representar una ventaja fundamental al ser usado en la cirugía oncológica^{128,129}, aunque hay autores que han demostrado un aumento de crecimiento en células de cáncer de colon tras 6 h de exposición al gas¹³⁰.

In vitro, sobre células HEPG2 en situaciones similares a la diabetes pueden aumentar la proliferación celular¹³¹, al igual que sobre células madre gliales, debido a la liberación de factores inducidos por la hipoxia¹³², a través de modulación genética¹³³.

Wada *et al.* encontraron en su estudio en ratones que la suma del bloqueo espinal a la anestesia con sevoflurano preserva el equilibrio Th1/Th2, reduciendo por tanto la aparición de metástasis¹³⁴.

Este gas es capaz de alterar la liberación de citoquinas por las células NK en respuesta a las células tumorales, inhibiendo la liberación de IL-1 y TNF α , no altera la de IL-2^{135,58} y disminuye el nivel de VEGF inducido por la hipoxia en células tumorales mediante alteración de la transcripción genética¹³⁶.

Otros autores también demostraron como el sevoflurano produce apoptosis en células expuestas. También se ha publicado que no induce citotoxicidad en células PC12 o neuronas primarias corticales¹³⁷.

2.2 Propofol

El propofol es un agente anestésico utilizado tanto durante la cirugía como en la Unidad de Cuidados intensivos para sedaciones postoperatorias.

Diferentes estudios llevados a cabo han demostrado que a concentraciones clínicas se inhibe la invasión de células cancerígenas humanas (HeLa) mediante la modulación genética (RhoA)¹³⁸, la inhibición de formación de fibras de actina y de adhesión celular.¹³⁸ En modelos animales a dosis mucho más altas que las utilizadas en clínica se observó que se previenen las metástasis pulmonares por la inhibición de la capacidad invasiva en lugar de por la inhibición del crecimiento. Aunque estos modelos no son reproducibles en humanos, confirman estudios previos que apuntaron a su efecto estimulador de la inmunidad antitumoral en ratones¹³⁹.

Se ha demostrado también que en células de tumor glial suprime proliferación e invasión, e induce apoptosis a través de la modulación de ARN, y de la disminución de MMP-2.¹⁴⁰ Lo mismo ocurre en células de tumor pancreático¹⁴¹, gástrico¹⁴², y hepático lográndose una disminución de la capacidad invasora¹⁴³.

De igual forma está documentada la disminución de proliferación, invasión e inducción de apoptosis sobre células de osteosarcoma¹⁴⁴.

Respecto a la acumulación de proteína beta amiloide en células de neuroglioma humano, posible causa de Alzheimer asociado a anestesia, Tian *et al.* demostraron que la apoptosis inducida por sevoflurano significativamente disminuyó en las células tratadas con propofol, además el propofol reducía la formación de radicales libres de oxígeno así como la acumulación de proteína β amiloide inducida por sevoflurano. Además disminuía la producción de IL-6 proinflamatoria.¹⁴⁵

A diferencia de otros anestésicos, el propofol no altera la actividad NK ni aumenta la posible aparición de metástasis⁹⁰, y en comparación con sevoflurano los cambios en la inmunidad (CD3, CD4 y CD4/CD8), son de menor duración, pero sin significación clínica¹⁴⁶, aunque en ratones ha demostrado una mejora de la inmunidad antitumoral¹³⁹.

Markovic *et al.* demostraron que el propofol produce un incremento significativo de IL-10 que puede durar hasta 24 h tras la cirugía, con una disminución del porcentaje IL-6/IL-10 en pacientes sometidos a craneotomías¹²⁶, disminuyendo por tanto la respuesta inflamatoria.

Existen dos preparados nuevos de propofol anticancerígenos, propofol-DHA y propofol-EPA, que disminuyen significativamente la adhesión celular, la migración e inducen apoptosis en células de cáncer de mama^{58,147}. Sin embargo, algunos estudios han encontrado en determinadas extirpes (MDA-MB-468), aumento significativo de la migración bajo los efectos del propofol^{148,149}, debido a una reorganización del citoesqueleto celular.

Shibakawa *et al.* investigaron los efectos de este agente anestésico en la respuesta inflamatoria de células gliales nativas subrayando como el propofol no afecta a la producción de óxido nítrico o TNF- α , importantes en procesos neurodegenerativos agudos o crónicos¹⁵⁰.

Xu *et al.* en su estudio comprobaron que el suero de los pacientes que recibieron propofol y anestesia torácica epidural inhibía proliferación e inducía más apoptosis al cultivar células de cáncer de colon que aquellos que recibieron sevoflurano y opioides¹⁵¹.

En cualquier caso, está demostrado que durante una colecistectomía abierta, una anestesia total intravenosa con

propofol y remifentanilo suprime la respuesta inflamatoria causada por la cirugía en mucha mayor medida que un técnica anestésica balanceada con isoflurano, logrando una disminución de los niveles plasmáticos de TNF- α , IL-6 e IL-10¹⁵².

Para finalizar, propofol es un potente antioxidante, previene el estrés oxidativo y la expresión de la oxido-nítrico sintasa pudiendo bloquear la producción de los mediadores que participan en el desarrollo del daño producido por halotano¹⁵³.

2.3 Opiáceos

La administración de opiáceos, tanto perioperatoria como crónica, causa supresión de la inmunidad tanto celular como humoral. Esto incluye las células NK, la producción de citoquinas, la actividad fagocitaria y la producción de anticuerpos⁵⁸.

Sin embargo, el manejo del dolor es un factor crítico a tener en cuenta, ya que el control adecuado del dolor favorece la resistencia del paciente a presentar metástasis¹²⁴.

2.3.1 Fentanilo

El fentanilo es un opioide ampliamente utilizado con una potencia analgésica aproximadamente 80 veces mayor que la morfina. Está demostrado que causa inmunosupresión por diferentes mecanismos^{37,38,154,155}.

Parece tener efectos beneficiosos en el desarrollo y tratamiento del cáncer óseo. En modelos experimentales, la administración repetida de dosis equianalgésicas de fentanilo y morfina iniciadas el día 1 (como tratamiento profiláctico) o el día 7 (como tratamiento curativo) tras la inoculación de células cancerígenas en el fémur determina una disminución del dolor y

del crecimiento tumoral con menor destrucción ósea, sugiriendo que los tratamientos basados en estos agentes tienen claras propiedades antinociceptivas y producen una disminución de la lesión ósea^{156,157}.

La actividad de diferentes dosis de fentanilo sobre la actividad de las células NK en diferentes puntos de la inoculación tumoral ha sido investigada por Shavit *et al.* Sobre modelos experimentales demostraron como usar dosis intermedias de fentanilo suprime la actividad NK aumentando las metástasis tumorales en pulmón⁸⁹, y que éste efecto es dosis dependiente.

En función de la cantidad de fentanilo usado en la cirugía la velocidad de recuperación de la actividad citotóxica de las células NK es diferente. El segundo día postoperatorio, esta actividad volvió a los valores de control en pacientes tratados con dosis bajas, mientras que permaneció suprimida en los pacientes tratados con dosis altas, mostrando que puede tener un efecto a largo plazo en la evolución del paciente, sobre todo en los oncológicos^{89,158,159}. El mismo estudio mostró que la inmunosupresión de las células NK fue completamente revertida por IL-2 y parcialmente por INF α y β . Esto puede ser un objetivo potencial para inmunoterapia.

También se ha investigado el efecto del fentanilo sobre el receptor de la noradrenalina, demostrando que origina una inhibición de su liberación en células de neuroblastoma humano¹⁶⁰.

Por tanto, tal como ocurre con muchos otros opioides empleados en la práctica clínica, el fentanilo no previene la inmunosupresión inducida por la cirugía.

2.3.2 Morfina

La morfina se usa ampliamente mediante diferentes vías de administración para el tratamiento del dolor oncológico.

Sus efectos sobre el crecimiento tumoral y metastásico se han estudiado ampliamente, obteniéndose en algunos estudios resultados contradictorios (incremento del crecimiento metastásico en ratas¹⁶¹ vs disminución del crecimiento de células tumorales in vivo^{162,163,164}) así como su interacción con el sistema inmunológico y la estimulación de la angiogénesis^{58,165}, que parece que se estimula por una vía similar a las del VEGF^{86,166} siendo el efecto inmunomodulador más intenso tras la administración aguda que en el tratamiento crónico¹⁶⁷.

El efecto inmunosupresor de los opioides puede estar mediado por una acción central a nivel del eje HPA o bien por el efecto directo sobre receptores $\mu 3$ y OGF α (receptor del factor de crecimiento opioide), implicados en procesos de señalización celular activando producción de anticuerpos y citotoxicidad mediada por células NK¹⁶⁸. Esta supresión es sensible a naloxona⁸⁹.

La morfina tiene mayor afinidad por estos receptores que los opioides sintéticos como el fentanilo. Las células tumorales son capaces de segregar opioides que podrían tener una función autocrina¹⁶⁹.

El efecto de la morfina en un modelo experimental de metástasis pulmonares y de línea de células de cáncer colorrectal y en otras líneas cancerígenas demostró que puede inhibir la capacidad de adhesión e invasión mediante diferentes mecanismos inhibitorios que afectan al receptor opioide¹⁷⁰ o mediante la activación de la fosforilación del p53¹⁷¹.

La morfina también muestra elevada actividad citotóxica contra tres líneas de células tumorales humanas de pulmón, de carcinoma mamario y leucemia promielocítica^{172,173}.

Se ha demostrado que a las dosis usadas en clínica aumenta la angiogénesis y favorece el crecimiento de tumor de mama en ratones¹⁷⁴, y que este efecto puede ser prevenido mediante la administración conjunta con celecoxib¹⁷⁵. También se ha demostrado que el tratamiento con morfina a largo plazo favorece el crecimiento tumoral. En modelos experimentales de cáncer óseo, el tratamiento crónico con morfina aumenta el dolor, la osteolisis, la pérdida ósea y la fractura espontánea, así como los marcadores de daño tumoral y la expresión de citoquinas proinflamatorias¹⁷⁶.

En pacientes oncológicos avanzados también es muy importante el efecto de los metabolitos de la morfina, ya que actúan modulando parte de la inmunidad humoral y celular en las etapas iniciales del tratamiento con morfina¹⁷⁷.

En resumen, los opioides en el contexto quirúrgico tienen un efecto angiogénico e inhibidor de la inmunidad celular en la cirugía oncológica. El dolor agudo por sí mismo es también prometastásico y su alivio será antimetastásico. Los opioides de baja potencia, los AINES y la anestesia locoregional tendrían un perfil más protector en la cirugía del cáncer que la morfina y los opioides sintéticos potentes.

2.4 Antiinflamatorios No Esteroideos

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINES) inhiben la síntesis de la prostaglandina E2 (PGE2) a través de la inhibición de la ciclooxigenasa en los macrófagos.

Las células de cáncer de mama humano, colorrectal, pulmón, mama, cérvix, piel y vejiga expresan COX-2^{86,178}, que estimulan la migración celular, la invasión, la producción de factor de crecimiento endotelial, y la linfangiogénesis, fundamentalmente a través de la PGE2 endógena que actúa como mediador de otros estímulos¹⁷⁹, por lo que éste podría ser el mecanismo para evadir la respuesta inmunitaria del huésped¹⁷⁵.

Los inhibidores de la COX 2 tienen un efecto anti-tumoral y antiangiogénico en modelos animales¹⁸⁰ y también durante el perioperatorio¹⁸¹.

Un inhibidor de la COX 2, etodolaco, ha demostrado atenuar el efecto de la cirugía oncológica pulmonar de generar metástasis, y cuando se asocia con propanolol lo abole. Una dosis única preoperatoria es eficaz⁵⁸.

Colecoxib, un inhibidor de COX 2 inhibe la angiogénesis producida por el tratamiento crónico con morfina, el crecimiento tumoral, las metástasis y la mortalidad en ratones¹⁷⁵.

La indometacina reduce en ratas la diseminación tumoral, preservando las células natural NK sistémicas,⁸⁶ y el ketorolaco se asoció a una reducción de recidiva tumoral en las pacientes en un análisis retrospectivo¹⁸².

Las células de cáncer de mama sobreexpresan COX2, por lo tanto las mujeres tratadas con estos fármacos podrían tener una incidencia menor de cáncer de mama¹⁸³.

El colecoxib está aprobado por la FDA en la prevención del cáncer de colon en la poliposis adenomatosa familiar.

Existen estudios que han demostrado el efecto beneficioso de dosis bajas de aspirina en la prevención primaria y en la mortalidad del cáncer de colon^{86,184,185}.

Por lo tanto, frente a los efectos protumorales de las PG, los AINES tienen actividad antitumoral.

10 ANESTESIA REGIONAL, ANESTÉSICOS LOCALES Y CÁNCER

La anestesia regional se ha extendido para mejorar la analgesia en el postoperatorio y evitar los efectos adversos relacionados con los anestésicos generales o con el manejo de la vía aérea. Además reduce significativamente náuseas, vómitos, dolor y otros efectos colaterales²⁷⁻²⁹.

Tal como se ha explicado previamente, está demostrado que hay tres factores asociados con la cirugía oncológica que alteran la inmunidad celular, favoreciendo el riesgo de metástasis y recurrencia de enfermedad. El primero es la cirugía en sí misma, que libera células tumorales a la circulación, disminuye la inmunidad celular, incluidas las funciones de los linfocitos T citotóxicos y de las células NK, reduce las concentraciones circulantes de factores antiangiogénicos relacionados con el tumor (por ejemplo, angiostatina y endostatina), aumenta las concentraciones de factores pro angiogénicos, como el VEGF 6 y libera

factores de crecimiento que promueven el crecimiento local y a distancia del tejido canceroso^{65,103}.

El segundo factor es la anestesia general, que deteriora numerosas funciones inmunes, entre ellas, las de los neutrófilos, macrófagos, células dendríticas, linfocitos T y células NK.

El tercer factor es el uso de opioides que inhiben tanto la función celular como la función humoral inmune. Además, la morfina es pro-angiogénica¹⁸⁶.

La anestesia y la analgesia regional atenúan o inhiben los efectos promotores tumorales de la anestesia general y de la analgesia con opioides. Por ejemplo, la anestesia regional evita en gran parte la respuesta de estrés neuroendocrino a la cirugía¹⁸⁷, conservando mejor la función de las células NK^{103,134}.

Los estudios confirman la asociación entre anestesia regional y disminución de enfermedad metastásica^{56,64,187-190}; aunque hay otros que no han podido demostrarlo.

Groetelaers *et al.* en un estudio demostraron que la recurrencia axilar tras biopsia de ganglio centinela bajo anestesia local en cáncer de mama está significativamente disminuida¹⁹¹. Además, produce una disminución en los niveles de VEGF y un aumento en los de TGF- β ⁸⁶. Otros estudios demuestran como el cociente Th1/Th2 se preserva mejor con anestesia subaracnoidea que con anestesia general^{134,192}.

Algunos anestésicos locales, como la lidocaína, tienen un efecto inhibitorio directo sobre la actividad del receptor del factor de crecimiento epidérmico, objetivo en las terapias antiproliferación celular¹⁹³. Es más, la lidocaína utilizada a concentraciones clínicas tiene la habilidad de inhibir la capacidad invasora de células cancerígenas humanas, modulando el EFG de unión a la heparina (HB-EGF), demostrando que puede ser el anestésico ideal para las infiltraciones en cirugía oncológica¹⁹⁴.

La ropivacaína suprime el crecimiento *in vitro* de células de adenocarcinoma de colon¹⁹⁵, aunque parece que el efecto antiproliferativo sólo aparece con dosis altas¹⁹⁶. A dosis equivalentes a las utilizadas en clínica ha demostrado capacidad para inducir apoptosis de células *in vitro*¹⁹⁷.

11 ANESTESIA LOCO-REGIONAL Y SUPERVIVENCIA

Algunos trabajos retrospectivos relacionan el uso de una técnica loco-regional con una mayor supervivencia y una menor incidencia de recidiva¹⁹⁸. En cirugía de melanoma se observó una recurrencia un 40% mayor si se aplicaba una anestesia general frente a una local¹⁹⁹. En un análisis retrospectivo se observó que añadir bloqueo paravertebral reducía las recidivas y aumentaba de forma significativa la supervivencia en cirugía de cáncer de mama^{186,187}, aunque hay otros que no son concluyentes³³.

En el caso del cáncer de próstata mientras algunos trabajos han relacionado la anestesia regional con un mejor pronóstico, y en estudios con cáncer de colon los resultados son similares²⁰⁰, demostrando una mejora de la supervivencia en pacientes con catéter epidural libres de enfermedad metastásica en el momento de la cirugía²⁰¹, aunque también hay estudios que no han podido demostrar esta mejora de pronóstico^{64,202,203}.

En el cáncer de ovario también existen estudios que demuestran que la anestesia epidural mejora la supervivencia, incluso que el tiempo libre de enfermedad es mayor si se utiliza de forma intraoperatoria.⁸⁷

12 ANESTÉSICOS LOCALES Y SU RELACIÓN CON: INFLAMACIÓN, PROLIFERACIÓN, APOPTOSIS Y MIGRACIÓN

12.1 Efectos Antiinflamatorios

Los anestésicos locales ejercen su acción a través del bloqueo de los canales de calcio, aunque tienen otros efectos importantes que ocurren a concentraciones mucho más pequeñas que las que se precisan para dicho bloqueo²⁰⁴.

Tienen efecto en la respuesta inflamatoria y sobre todo en las células inflamatorias, como polimorfonucleares, macrófagos y monocitos., y aunque los mecanismos moleculares aún no están completamente claros, sabemos que los PMN no expresan canales de sodio, por lo tanto, estos efectos son causados a través de otra vía.



Ilustración 19: Mediadores de la reacción inflamatoria

La acción más importante es la inhibición de la liberación de los mediadores inflamatorios como los leucotrienos, sobre todo LTB₄, y las interleucinas.

Los leucotrienos juegan un papel importante en la fase temprana de la inflamación ²⁰⁵ y son responsables de una inflamación desmedida que destruye más que proteger, y del desarrollo de situaciones perioperatorias como el dolor, el distrés respiratorio del adulto, el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y fallo multiorgánico ²⁰⁶.

La reducción de la liberación de leucotrienos por tanto es el mecanismo más claro de modular la inflamación. El LTB₄ es sintetizado en PMN y monocitos, es un potente estimulador de la actividad de PMN. Induce marginación de las células endoteliales, degranulación, diapédesis y formación de radicales libres, y actúa sinérgicamente con PGE₂ para aumentar la permeabilidad vascular. Es un agente quimiotáctico muy potente para PMN *in vivo* e *in vitro*. Lograr bloquear este mediador ejerce una acción antiinflamatoria, ya que se dejan de reclutar PMN al lugar de inflamación.

La IL-1 α es otro mediador inflamatorio que al actuar sobre su receptor en los PMN, estimula la fagocitosis, quimiotaxis y degranulación. Por tanto, reducir la liberación de estas citoquinas también contribuyen al efecto antiinflamatorio de los AL.

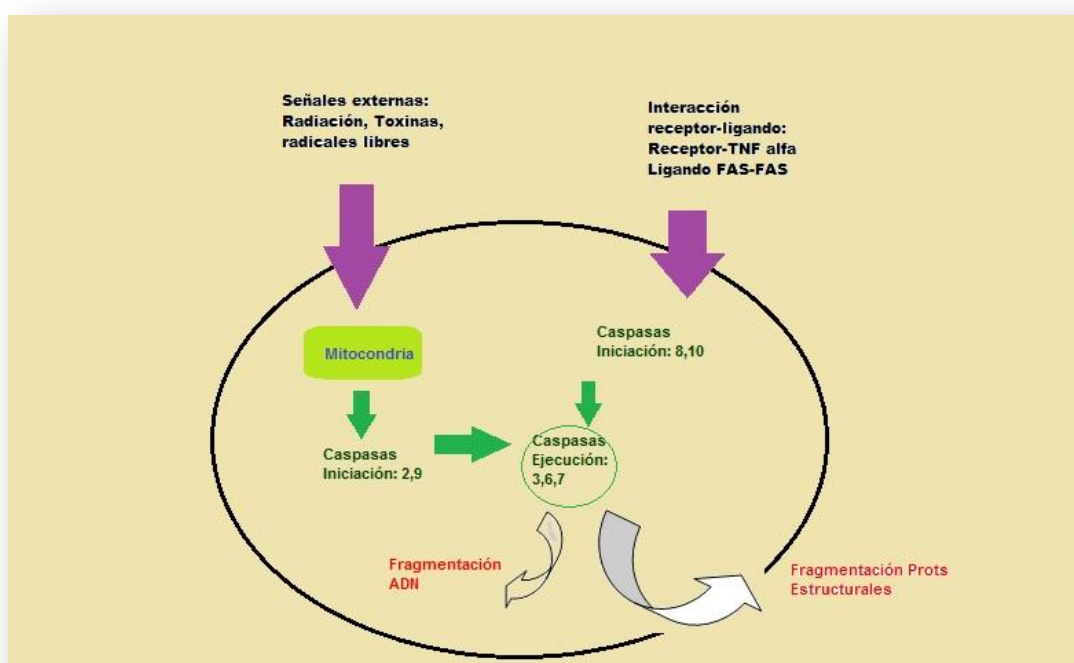
Este efecto antiinflamatorio se consigue a dosis muy bajas (micromolares)²⁰⁷ y esto explica sus efectos en la disminución del edema²⁰⁸ y sus efectos como antiinflamatorios.

Algunos autores también han atribuido los efectos antimetastásicos de los anestésicos locales a su acción sistémica²⁰⁴. Marret *et al.* Realizaron un metaanálisis donde se puso de manifiesto que la lidocaína intravenosa en cáncer de colon preserva mejor la inmunidad, reduce el tiempo hasta la recuperación de la motilidad intestinal y el dolor postoperatorio^{86,209}.

12.2 Efecto Apoptótico

La apoptosis está fundamentalmente controlada por una familia de proteasas específicas, las caspasas, que actúan como iniciadores del proceso. Las caspasas se pueden activar por dos vías, la extrínseca a través de un receptor y la intrínseca a través de la vía mitocondrial, ambas dependientes de la formación de complejos multiproteicos²¹⁰ (Ilustración 20).

Ilustración 20: Mecanismo de acción de las caspasas



Existen estudios que demuestran *in vitro* la capacidad apoptótica de los anestésicos locales frente a las células tumorales⁸⁶.

En estudios animales se ha demostrado la citotoxicidad de muchos anestésicos locales, incluyendo la lidocaína. De nuevo este mecanismo no está asociado al bloqueo de los canales de sodio voltaje dependientes²¹¹, sino a través de daño mitocondrial.

Es conocido que la lidocaína es tóxica para algunas líneas celulares, y se ha confirmado que origina desmetilación del DNA y regula la proliferación de líneas celulares de cáncer de mama humano (MCF-7 y MDA-MB-231), y que actúa sinérgicamente con el cisplatino²¹². También se conoce que es citotóxica en cultivos de células neurales y de ganglios del asta dorsal de rata, mediante mecanismos que implican alteración de la función mitocondrial y activación de las vías apoptóticas.²¹³.

Wen *et al.* demostraron el efecto apoptótico de la proparacaína (anestésico usado en oftalmología) ya que rompe el potencial transmembrana mitocondrial de las células del endotelio corneal humano activando la cadena de caspasas. En su estudio demostraron citotoxicidad importante en las células corneales humanas *in vitro* y en células corneales de gato *in vivo*²¹⁴. El efecto apoptótico de la dibucaína mediante la alteración de la membrana y originando aumento del calcio intracelular y de radicales libres de oxígeno en células de neuroblastoma fue publicado por Kim *et al*²¹⁵. Así mismo se vió que los anestésicos locales producían también apoptosis en células de linfoma en hipertermia, mediante el aumento también del calcio intracelular²¹⁶.

La procaína inhibe la proliferación de células de carcinoma nasofaríngeo. Ropivacaína y bupivacaína pueden inducir también apoptosis de células de anillo fibroso de conejo *in vitro* de forma dosis dependiente pero a concentraciones clínicamente relevantes¹⁹⁷, así mismo muestran toxicidad de forma tiempo y concentración dependientes sobre cultivo de células madre mesenquimales humanas en monocapa, aunque no en pruebas con tejido completo²¹⁷.

La mepivacaína, también ha demostrado citotoxicidad sobre condrocitos y cartílago ²¹⁸. Se sugiere que la mepivacaína puede ser menos tóxica. ²¹⁹ Grishko *et al.* encuentra que el daño de los condrocitos es causado por disfunción mitocondrial y que además de bupivacaína y ropivacaína, la lidocaína también puede producirlo²²⁰.

Werdehausen *et al* demostraron en su estudio que la lidocaína induce apoptosis a concentraciones similares a las intratecales tras una anestesia espinal, y con concentraciones más altas directamente producía necrosis, pudiendo ser responsable de daño neural como la cauda equina tras anestesia espinal. La apoptosis que induce la lidocaína es mediada a través de la vía mitocondrial, y es independiente de la caspasa 8 y de las vías mediadas por receptores.

A concentraciones clínicas la bupivacaína disminuye la viabilidad celular e inhibe la proliferación y la migración de líneas celulares de cáncer de ovario (SKOV-3) y próstata (PC-3), logrando propiedades anticancerígenas directas por medio de la activación de la vía apoptótica intrínseca y extrínseca en el cáncer de ovario y únicamente de la intrínseca en el cáncer de próstata²²¹.

En los anestésicos locales, la capacidad para producir apoptosis parece ser proporcional a la liposolubilidad, e independiente de si son ésteres o amidas^{86,222}.

En cualquier caso, el estrés celular puede disparar la apoptosis a través de diferentes vías. Recientemente, se ha propuesto que los anestésicos generales pueden producir apoptosis neural mediante ambas vías, intrínseca y extrínseca ²²³.

12.3 Efectos sobre la Migración

Las células tumorales aisladas tienden a generar microtentáculos de tubulina, protrusiones dinámicas que contienen microtúbulos y que permiten fijarse de nuevo a un tejido. Estos microtentáculos contienen vimentina y alfa-tubulina detirosinada, que están unidas a kinesina. Yoon *et al.* demostraron que la tetracaína inhibe la kinesina y la formación de tentáculos, bloqueando la progresión de metástasis al impedir la adhesión y la agregación celular ⁸⁶. La lidocaína puede tener la misma acción pero en menor grado.

Xuan *et al.* han investigado el efecto de la bupivacaína a concentración 1mM en la migración de células de cáncer de ovario y páncreas. Tras 24 h de tratamiento con bupivacaína, la migración de las células de cancerígenas (tanto SKOV-3 como PC-3) disminuyó respecto al grupo control, siendo esta disminución de casi un 60% en el cáncer de próstata²²¹. Concentraciones menores de 1mN no afectaron a la migración.

Piegeler *et al.* demostraron que los anestésicos locales tipo amida pueden tener propiedades antimetastáticas, ya que observaron inhibición de migración de células de cáncer de pulmón (NCI-H838) con lidocaína y ropivacaína, por un mecanismo independiente del bloqueo de los canales de sodio, mediante inactivación de proteínas kinasas y moléculas de adhesión intercelulares ²²⁴.

12.4 Efectos sobre Proliferación

Los anestésicos locales también son capaces de inhibir la proliferación de distintas líneas de células cancerígenas.

Tada *et al* demostraron en su estudio que la procaína poseía la capacidad de inhibir el crecimiento y desmetilar el DNA en células de hepatoma humano, tanto in vivo como in vitro, proponiéndolo como un agente para futuras terapias de carcinoma hepatocelular²²⁵. La desmetilación es de gran relevancia terapéutica en el periodo perioperatorio porque puede reactivar genes que suprimen a las células tumorales e inhiben su crecimiento²²⁶.

La lidocaína ha demostrado que también es capaz de causar desmetilación del DNA y por tanto impedir la proliferación y causar citotoxicidad en células de cáncer de mama²¹². Lirk *et al* en su trabajo con células de cáncer de mama BT-20 (ER negativas) y MCF-7 (ER positiva) publicó que la lidocaína disminuye la metilación en ambas, la ropivacaína en la línea BT-20, pero la bupivacaína no presentaba este efecto. La lidocaína con algunos agentes quimioterápicos (5-aza-2-deoxycytidina), tiene un efecto sinérgico como antineoplásico²²⁶. La infiltración con lidocaína inhibe la capacidad de invasión del cáncer al regular la liberación de algunos factores de crecimiento.¹⁹⁴, e impide la proliferación de células de cáncer de lengua¹⁹³.

La ropivacaína también afecta a las células madres mesenquimales, (progenitores clonales de células no hematopoyéticas con gran tropismo por tumores y heridas).

Todos los anestésicos locales inhibieron en un estudio la proliferación de las células mesenquimales a una concentración 100µM, disminuyendo la formación de colonias, alterando la diferenciación a fibroblastos y retrasando el cierre de la herida in

vitro. Los genes asociados con diferenciación celular, tumorigénesis y metástasis fueron inhibidos con la ropivacaína²²⁷.

Por lo tanto, la acción de los anestésicos locales no se limita solamente al bloqueo de los canales de sodio, sino que puede afectar a diversos fosfolípidos y proteínas de membrana, así como receptores. Inhiben receptores NMDA que pueden relacionarse con la capacidad de la anestesia regional de prevenir el dolor crónico y tener un efecto antiproliferativo, así como sobre receptores de serotonina, GABA, glicina o nicotínicos⁸⁶ y se les ha propuesto incluso como segundos mensajeros.

II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La mastectomía es un procedimiento que se realiza habitualmente con anestesia general en nuestro medio. Aunque es posible realizar esta cirugía sólo con anestesia regional sólo se hace en casos aislados en los que la anestesia general está contraindicada.

Desde hace unos años el anestesiólogo, según su criterio, añade técnicas de anestesia regional para reducir el dolor postoperatorio. Con este fin se han utilizado la vía epidural, la paravertebral o un nuevo abordaje de bloqueo de las ramas cutáneas laterales y anteriores de los nervios intercostales.

Esta nueva técnica de bloqueo intercostal es más sencilla y menos invasiva. Además tiene una baja incidencia de efectos adversos sistémicos o de neumotórax, que pueden aparecer con las vías epidural o paravertebral. En nuestro hospital, estamos realizando este bloqueo desde hace más de un año y hasta el momento hemos de destacar la ausencia de complicaciones, un mejor control del dolor y la mayor satisfacción de pacientes, tal y como nos han transmitido los cirujanos y las propias enfermas.

Por otra parte, en los últimos años algunos estudios han relacionado los fármacos utilizados en las diferentes técnicas anestésicas con la progresión tumoral y la supervivencia de los pacientes en cánceres como mama, melanoma, colon o próstata. Aunque el grado de evidencia de los estudios es bajo y los resultados son contradictorios, *In vitro* influyen en la proliferación y la angiogénesis tumoral o en la inmunovigilancia por parte del huésped. Paralelamente, también se van acumulando evidencias en pequeños estudios clínicos de que la anestesia regional podría modificar las concentraciones plasmáticas de diferentes mediadores bioquímicos, como interleucinas y sustancia P, afectando así a eventos tan determinantes como la angiogénesis.

En resumen, existen evidencias *in vitro*, en ensayos en animales y en estudios retrospectivos humanos que apoyan un efecto beneficioso del uso de la anestesia loco-regional en la cirugía oncológica, no sólo por un mejor control analgésico, sino por una posible mejora del pronóstico y la supervivencia. Por todo ello nos planteamos comparar dos técnicas anestésicas y analizar su eficacia clínica y la modificación de concentraciones plasmáticas de diferentes mediadores bioquímicos, como interleucinas y sustancia P, mediante un estudio observacional, prospectivo.

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1 HIPÓTESIS

El suero de pacientes sometidas a cirugía de cáncer de mama tiene diferente concentración de interleucinas 6 y 10 y de sustancia P en función del tipo de anestesia que se utilice (Bloqueo de ramas intercostales y propofol versus sevoflurano y opiáceos).

2 OBJETIVOS

2.1 Primario

Comprobar si la anestesia intravenosa con propofol asociada a bloqueo de las ramas intercostales para cirugía de cáncer de mama produce cambios en los niveles séricos de IL-6 e IL-10 y de SP frente a la anestesia general con sevoflurano y opiáceos.

2.2 Secundarios

- Demostrar que el bloqueo de las ramas intercostales es una técnica sencilla, con pocas complicaciones, menor consumo de mórficos y mejor control del dolor que la anestesia con opiáceos.
- Comprobar, *in vitro*, que la sustancia P estimula la proliferación y la migración de células madre mesenquimales y de células tumorales, mientras que la lidocaína tiene el efecto contrario.
- Demostrar que la lidocaína actúa compitiendo con la sustancia P y es capaz de contrarrestar sus efectos *in vitro*.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

1. POBLACIÓN A ESTUDIO

Tras la aprobación del protocolo por el Comité Ético del Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, (CAN-FJD-15-01)(ver Anexos) se procedió a iniciar la selección de pacientes para este estudio prospectivo, randomizado, longitudinal y comparativo.

Se incluyeron en el estudio a pacientes con indicación de cirugía por cáncer de mama, diagnosticado tras PAAF positiva, que estuvieran dispuestas a participar en el estudio y dar su consentimiento informado por escrito tras ser adecuadamente informadas, y que tuvieran edades comprendidas entre 18 y 90 años.

Como criterios de exclusión se consideraron los siguientes puntos:

- Negativa a participar en el estudio y/o a dar su consentimiento informado por escrito, o para entender lo que dicho estudio significa.
- Insuficiencia renal en diálisis.
- Insuficiencia hepática (Child C).
- EPOC que requiriera tratamiento farmacológico con corticoides.
- Tratamiento farmacológico por dolor crónico de otro origen.
- Embarazo.
- Nivel de hemoglobina menor de 10 gr/dl.
- Contraindicación de anestesia general o anestesia regional por cualquier razón.

La muestra se recogió entre Noviembre del 2015 y Septiembre del 2016.

Se incluyeron en el estudio 30 pacientes mayores de 18 años, diagnosticadas de patología maligna de mama, con indicación de tumorectomía o mastectomía, con o sin biopsia de ganglio centinela. Se realizó vaciamiento cuando estaba indicado.

De éstas, se excluyeron 10 paciente debido a:

- Error de diagnóstico preoperatorio por tratarse de Carcinoma in situ (2 pacientes).
- Tumor concomitante aún no diagnosticado en el momento de la cirugía de la mama (2 pacientes).
- Muestras hemolizadas en la primera toma (3 pacientes)
- Cirugía previa de cáncer de mama (una paciente)
- Abandono del estudio por mal acceso venoso (2 pacientes)

2. RANDOMIZACIÓN

Las pacientes fueron randomizadas según el programa informático random.org, que asigna de manera aleatoria a las pacientes en uno de los dos grupos:

El grupo 1, denominado Anestesia General Morfina (AGM), en el que a las pacientes se les realizaba una anestesia inhalatoria con sevoflurano y el control del dolor se llevaba a cabo con opiáceos.

y el grupo 2, denominado Bloqueo Intercostal Propofol (BIP), en el que las pacientes recibían anestesia intravenosa con propofol y se les realizó un bloqueo de las ramas laterales y anteriores de los nervios intercostales.

Finalmente se incluyeron 10 pacientes en cada grupo.

3. TÉCNICA ANESTÉSICA

En el grupo AGM se realizó la inducción con propofol a 2-4 mg/kg, fentanilo a 2 µgr/kg y rocuronio 0.6 mg/kg. El mantenimiento se llevó a cabo con sevoflurano a 0.8-1.5 MAC para BIS entre 40-60, y se utilizó mezcla de oxígeno/aire 50/50.

La vía aérea se controló con mascarilla laríngea igel®. Antes de la incisión las pacientes recibieron además un bolo de morfina de 0.1 mg/kg iv, y la analgesia intraoperatoria se realizó con bolos de fentanilo 1-2 µgr/kg en función de las necesidades de analgesia.

Postoperatoriamente todas las pacientes recibieron paracetamol 1 gr, ondasetron 4 mg y ranitidina 50 mg. Si precisaban por náuseas se las medicaba con una ampolla de metoclopramida, y 2 gr de metamizol o bolos de fentanilo de 50 microgramos si presentaban dolor en escala verbal numérica (EVN) >3.

En las pacientes del grupo 2, BIP, la anestesia general se indujo igual que en el grupo 1. La anestesia regional se llevó a cabo tras la inducción y mediante control ecográfico. Se realizó un bloqueo de las ramas laterales y anteriores de los nervios pectorales (BCRA y BCRL) Se utilizaron 25 ml de levobupivacaína 0.25% para el BCRL y 5 ml para el BCRA en todas las pacientes.

Para el mantenimiento se utilizó propofol en perfusión continua para BIS 40-60, y se utilizó una mezcla de oxígeno/aire 50/50. Se usaron bolos de fentanilo de 1-2 µgrs/kg en función de las necesidades para analgesia intraoperatoria.

La analgesia postoperatoria se llevó a cabo igualmente con paracetamol, ondasetron y ranitidina a todas las pacientes, y nolutil y metoclopramida si precisaban por dolor o náuseas. Se prescribieron bolos de 50 microgramos de fentanilo si las pacientes presentaban dolor >3 en la escala verbal numérica (EVN).

4. VALORACIÓN DE EFICACIA CLÍNICA, SATISFACCIÓN Y EVENTOS ADVERSOS

Se realizó valoración del dolor que tenían las pacientes con una escala verbal numérica (0= nada de dolor; 10= el peor dolor que he tenido) al ir a recoger la segunda y tercera muestras, es decir, 1h y 18 h postcirugía. Se registró además la incidencia de náuseas y vómitos, así como la aparición de otras complicaciones.

El grado de satisfacción de las pacientes se valoró mediante una encuesta telefónica realizada entre 4 y 8 meses tras la cirugía. Se les pidió que valoraran todo el periodo perioperatorio, desde que llegaron a la sala de preanestesia hasta el día después de la cirugía, utilizando valores comprendidos entre 0, muy descontentas, hasta 10, muy satisfechas.

5. OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Se obtuvieron 3 muestras sanguíneas de 18-20 ml cada una de vena periférica de las pacientes.

La primera muestra se extrajo en la sala de preanestesia en el momento de la canalización de la vía periférica, en el brazo contralateral al de la cirugía, previo a la inducción anestésica (20-30 minutos antes). La muestra se dividió en dos tubos de tapón mostaza, que contienen gel separador y activador del coágulo, unos 9-10 ml aproximadamente.

La segunda muestra, se extrajo en la unidad de recuperación una hora tras la finalización de la cirugía.

La tercera muestra se extrajo en planta, entre 18 y 24 h tras la finalización de la cirugía, con las mismas características que las dos previas.

Los tubos con las muestras de sangre se dejaron coagular 30 minutos a temperatura ambiente y fueron centrifugados a 4000g durante 10 minutos. El suero se retiró por aspiración con pipeta obteniéndose entre 4 y 5 alícuotas por paciente que fueron congeladas a -20° , según protocolo.

6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables cuantitativas fueron descritas mediante la media y la desviación estándar, y las cualitativas mediante frecuencias y porcentajes. Las comparaciones de los dos grupos de pacientes se llevaron a cabo mediante la prueba de Mann-Whitney con variables cuantitativas, y la prueba exacta de Fisher con variables cualitativas. Las comparaciones de valores pre-operatorios y valores post-operatorios se realizaron mediante la prueba de rangos con signo de Wilcoxon. Para todas las pruebas se fijó un nivel de significación de 0.05. El análisis estadístico fue realizado con el programa estadístico Stata 12.

En el estudio *in vitro* los resultados se analizaron mediante el test de Kruskal-Wallis para comparar medias. Se consideró significativa una $p < 0.05$.

7. CULTIVOS CELULARES

Para realizar el estudio *in vitro* con lidocaína y SP se utilizaron dos líneas celulares diferentes.

Por una parte se emplearon células hASC (células madre derivadas del tejido adiposo humano), de características benignas, y una segunda línea celular, la línea de cáncer de mama MDA-MB-231 (ATCC® HTB-26™), cedida por el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital Universitario Fundación Jiménez Díaz, tras ser sometida a un análisis de autenticación (Cell Line Report: 710259498).

Las células de ambas líneas se cultivaron durante 24h en Dulbecco Modified Eagle's Medium (DMEM) (Gibco®, Invitrogen™ Life Technologies™, San Diego, CA, EE.UU.), suplementado con un 10% de suero fetal bovino (FBS) (Biowest Europe, Nuaille, Francia) y un 1% de penicilina/estreptomicina (10000 U/mL, 10000 µg/mL) (Gibco®), denominado a partir de ahora medio completo, en un incubador a 37°C con 5% de CO₂.

8. ESTUDIOS *IN VITRO* DE MIGRACIÓN Y PROLIFERACIÓN CELULAR CON LIDOCAÍNA Y SUSTANCIA P

La migración se evaluó con el modelo de cicatrización *in vitro*, descrito por Hulkower *et al.* como Scratch Assay²²⁸. Las células se sembraron a confluencia en placas multipocillo, y se incubaron a 37° C en una atmósfera enriquecida con CO₂ al 5% durante 24 horas. A las 24 horas se generó una herida en la monocapa celular con la punta de una pipeta estándar de 100 µl para obtener una zona libre de células, de manera que las células de los bordes pudieran migrar libremente y cerrar la herida.

Se retiró el medio de cultivo y se lavaron las células dos veces con PBS (tampón fosfato) para eliminar los restos celulares. Entonces

los cultivos de ambas líneas celulares (hASC y MDA-MB-231) se trataron con concentraciones crecientes de lidocaína (4000, 10000 y 20000 μM) y/o sustancia P a 50 y 500 nM. Se tomaron fotos a las 0 y a las 12 horas tras haber generado la herida para valorar la migración celular. Las fotografías fueron analizadas con el Software Image J para calcular el área de la herida sin cerrar. Las muestras se testaron por triplicado. Los resultados se muestran como porcentaje del área sin cubrir.

La proliferación se avaluó mediante en ensayo de viabilidad celular AlamarBlue® (AbD Serotec, MorphoSys UK, Oxford, Reino Unido). Alamarblue® es un reactivo coloreado que incluye un indicador de oxidación-reducción (REDOX) que emite fluorescencia y cambia de color en respuesta a la reducción química del medio de cultivo a causa del crecimiento celular.

Después de ser cultivadas durante 24 h según se describe en el punto 7, las células de ambas líneas se trataron con diferentes dosis de lidocaína (4000, 10000 y 20000 μM), y/o Sustancia P (50 y 500 nM). A las 24 horas de tratamiento se añadió a todos los pocillos un 10% (v/v) de AlamarBlue® y las placas se incubaron a 37° y 5% de CO₂ durante 2 horas. Se recogieron 100 μL por pocillo y se midió la absorvancia a 570 y 600 nm.

Los ensayos se realizaron por triplicado y se calculó la diferencia entre células tratadas y células control según indicaciones del fabricante. Los resultados se muestran como porcentajes.

9. DETERMINACIÓN DE NIVELES SÉRICOS DE SUSTANCIA P E IL 6 Y 10

La determinación de interleucinas y de sustancia P se realizó utilizando test comerciales de ELISA para sustancia P, IL-6 e IL-10 (R&D Systems, Inc. Minneapolis), siguiendo las indicaciones del fabricante.

V. RESULTADOS

1 VARIABLES CLÍNICAS

Las 20 pacientes que participaron en el estudio se randomizaron según el protocolo para ser anestesiadas con Anestesia general (AGM) o con Anestesia Regional (BIP). El mismo grupo de anestesistas y cirujanos participaron en todos los procedimientos. En ambos grupos, todas las pacientes eran mujeres y fueron homogéneos respecto a la edad, el peso, el procedimiento quirúrgico y la estancia hospitalaria (Tabla II).

No existió ninguna complicación anestésica en ninguno de los dos grupos, y todos los bloqueos se realizaron sin incidencias.

Tabla II: Características de las pacientes, expresadas como media, valor absoluto o porcentaje. Mastc: Mastectomías; Tumorc: Tumorectomía. Las variables se describen como media y desviación estándar o como números absolutos y porcentajes

	AGM n=10	BIP n=10	P
EDAD (años)	55.9±14.1	64.3±17.0	0.212
PESO (IMC)	25.4±4.4	25.7±3.4	0.762
MASTC	4 (40%)	5 (50%)	1.000
TUMORC	6 (60%)	5 (50%)	1.000
DIAS INGRESO			
Mastect	1.8±0.5	2.8±0.8	0.059
Tumorec	1.3±0.5	1.6±0.9	0.668

Así mismo, tampoco existen diferencias significativas respecto al tiempo quirúrgico ni a la estancia en la unidad de reanimación postoperatoria.

Las anatomías patológicas también fueron similares: 19 de las 20 pacientes sufrían tumores ductales infiltrantes, y sólo una presentó un tumor de otra extirpe, infiltrante mucinoso, con estadíos que variaban entre T1,T2 y T3, la mayoría sin ganglios positivos y sin metástasis (Tabla III, Tabla IV).

	GRUPO AGM (n)	GRUPO BIP (n)
T1	3	6
T2	6	3
T3	1	1
N0	7	6
N1	3	4
M0	9	7
Mx	1	3

Tabla III: Estadío tumoral de las pacientes. Número absoluto

	AGM	BIP	P
AP	DI* (100%)	DI*0(90%) Mucinoso (10%)	
GC POSITIVO	2 (20%)	3 (30%)	1.000
VACIAMIENTO	1 (10%)	3 (30%)	0.582
Receptores de estrógenos	64.6±39.0	82.0±29.2	0.146
Receptores de progesterona	41.6±41.5	45.1±35.9	0.969
HER 2	2 (20%)	0 (0%)	0.474
FIS	2 (20%)	0 (0%)	0.474

Tabla IV: Anatomía patológica y características tumorales. *DI: Ductal Infiltrante. Los resultados se describen como media y desviación estándar o como números absolutos y porcentajes

Aquellas pacientes que pertenecieron al grupo de anestesia regional presentan claramente menor consumo de mórnicos postoperatorios, siendo significativo que el 50 por ciento de las pacientes a las que se realizó anestesia general con morfina precisó bolos de fentanilo, a veces repetidos, hasta un máximo de 150 microgramos para conseguir un control del dolor adecuado (EVN<3), frente a ninguna de las 10 pacientes a las que se realizó el bloqueo ($p=0.033$) (Tabla V).

Tabla V: Consumo de analgésicos y opiáceos. Los resultados se describen como media y desviación estándar o como números absolutos y porcentajes

	AGM	BIP	P
PARACETAMOL Y/O METAMIZOL	10 (100%)	10 (100%)	1.000
DEXKETOPROFENO	1 (10%)	1 (10%)	1.000
FENTANILO INTRAOPERATORIO (μgr, media)	254.5±62.4	257.5±107	0.514
FENTANILO PO	5 (50%)	0 (0%)	0.033
FENTANILO POSTOPERATORIO (μgr, media)	40	0	0.087
EVA 1H	3.7±1.7	1.3±1.3	0.005
EVA 18-24H	1.7±1.8	0.9±1.1	0.305
NÁUSEAS Y/O VÓMITOS	3 (30%)	0 (0%)	0.211
ONDANSETRÓN	2 (20%)	0 (0%)	0.474

En esta línea destaca también la diferencia entre el EVN 1H de ambos grupos. Un 40% de las pacientes del grupo BIP presentaron un EVN de 0 a la hora de la cirugía, mientras que en el AGM las pacientes alcanzaron valores de EVN hasta 7. Ninguna de las pacientes del grupo PIB presentó un EVN >3 en la primera hora postoperatoria.

Al día siguiente (18h postquirúrgicas), el 60 % de las pacientes del grupo BIP no describían ningún dolor ni molestia (EVN 0), el doble que en el grupo AGM. El máximo dolor que valoraron las pacientes con bloqueo a las 18h fue de 3 (una paciente), frente a un EVN de 5 en AGM. (Tabla VI).

No hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas en el EVN a las 18h ($p=0.305$), pero si en el EVN 1h, con una $p=0.005$.

Por tanto las pacientes del grupo AGM requirieron más opioides en el postoperatorio y presentaron más dolor evaluado una hora después del ingreso en la Unidad de Reanimación.

EVN	EVN 1H		EVN 18H	
	AGM	BIP	AGM	BIP
0	-	4 (40%)	3 (30%)	6 (60%)
1	-	2 (20%)	2 (20%)	3 (30%)
2	2 (20%)	1 (10%)	1 (10%)	-
3	5 (50%)	3 (30%)	1 (10%)	1 (10%)
4	1 (10%)	-	1 (10%)	-
5	1 (10%)	-	1(10%)	-
6	1 (10%)	-	-	-
7	1 (10%)	-	-	-
8	-	-	-	-

Tabla VI: Comparación de EVN 1h y EVN 18h entre los grupos

El grado de satisfacción expresado por todas las pacientes es muy alto. Se logró contactar con 18 de las 20 pacientes. Ninguna realizó una valoración menor de 9, puntuando 12 pacientes con 10 y 6 con 9 su estancia en nuestra unidad.

2 ESTUDIO *IN VITRO* CON SUSTANCIA P Y ANESTÉSICO LOCAL EN CÉLULAS hASCs y MDA-MB-231

En nuestro estudio preliminar que sirvió de base para el estudio realizado con el suero de las pacientes, realizamos estudios de migración y proliferación, sobre dos grupos celulares, uno de características benignas (células madre de tejido adiposo humano, hASCs), y una segunda línea celular tumoral (MDA-MB-231).

Llevamos a cabo cultivos, por triplicado, con diferentes concentraciones de AL (lidocaína) y SP para determinar si existían cambios en la proliferación y en la migración de ambas líneas celulares.

2.1 Experimento de Migración

En el experimento de migración se detectó que a dosis de lidocaína mayores de 5000 μ M se producía muerte celular tanto en la línea MDA-MB-231 como en la línea hASCs, lo que originaba desaparición de la herida creada y hacía imposible la medición.

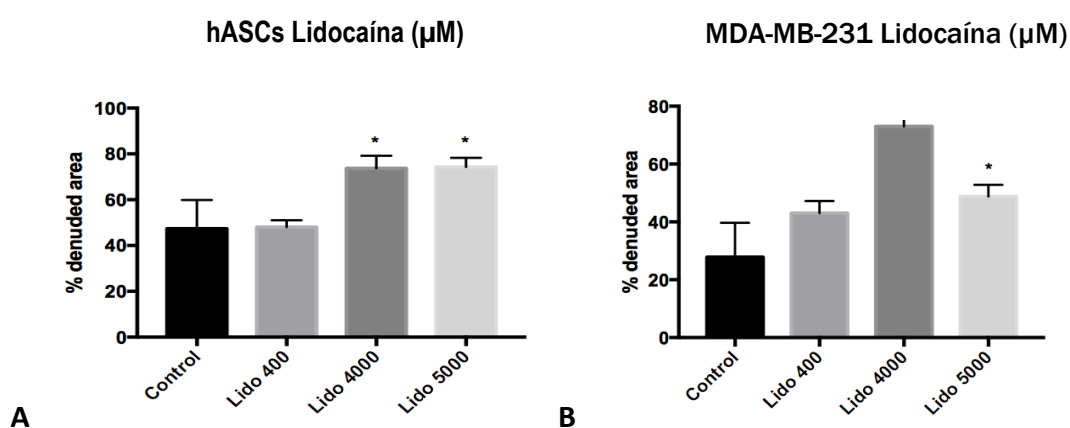


Fig 1: A.Migración en células hASCs a las 12h. * = $p < 0.05$; B. Migración en células MDA-MB-231 a las 12h. * = $p < 0.05$; *** = $p < 0.0001$

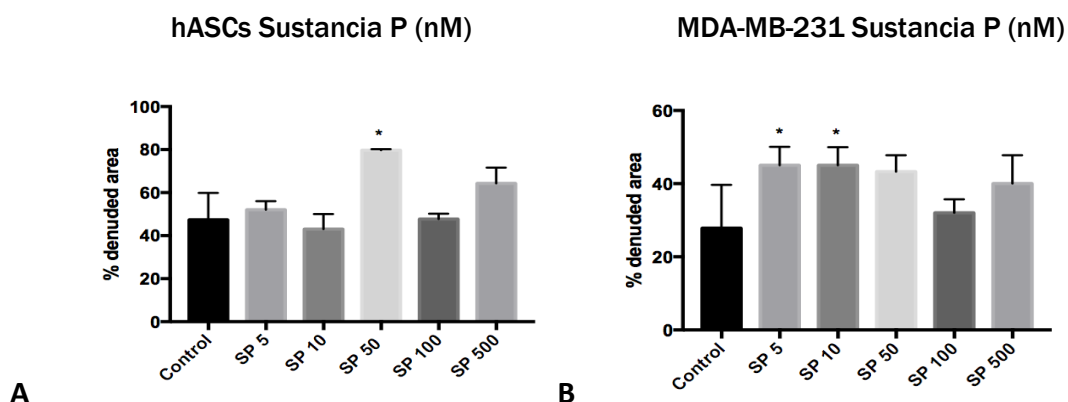
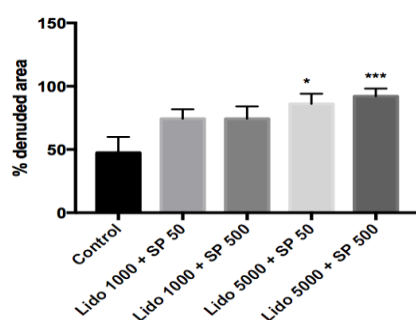


Fig2: A. Migración en células hASCs a las 12h. *=p<0.05; B. Migración en células MDA-MB-231; *=p<0.05

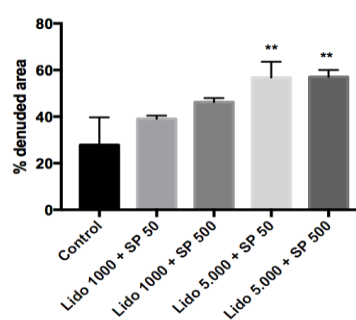
A las 12 horas, a concentraciones menores de lidocaína (4000 μ M, 5000 μ M), similares a las concentraciones clínicas de infiltración, existe una disminución de la migración estadísticamente significativa, con un porcentaje de herida abierta de alrededor del 75% ($p<0.05$), frente al grupo control. A concentraciones menores de AL no existen cambios en la migración celular (Fig 1A,B). La inhibición de la migración que origina la lidocaína sobre células cancerígenas es más potente, y a determinadas concentraciones la herida permanece abierta en un 80% ($p<0.0001$)(Fig 1B).

Al realizar los cultivos con SP, ésta no parece tener un efecto claro de estímulo sobre la migración (Fig 2A,B), y obtuvimos resultados contradictorios donde disminuía ligeramente la migración a determinadas concentraciones.

Posteriormente se combinó la SP con lidocaína a diferentes concentraciones para testar si ésta era capaz de contrarrestar la inhibición de la motilidad causada por la lidocaína.

hASCs Lidocaina(μ M) + Sustancia P (nM)

A

MDA-MB-231 Lidocaina(μ M) + Sustancia P(nM)

B

Fig 3: A. Migración en células hASCs a las 12h. B. Migración en células MDA-MB-231 a las 12h. *= $p<0.05$; **= $p<0.001$; ***= $p<0.0001$

La SP no aumenta la migración de las células tumorales en presencia de lidocaína, aún a concentraciones elevadas (5000 nM), ni en células benignas ni en tumorales ($p<0.01$, $p<0.005$) (Fig 3 A,B).

2.2 Experimento de Proliferación

Las concentraciones altas de lidocaína ($>5000\mu$ M) inhiben la proliferación tanto en células benignas como en células de cáncer de mama, aunque es destacable que en estas últimas la inhibición es más potente ($p<0.0001$). (Fig 4 A,B). Respecto a la sustancia P se puede apreciar que no tiene efecto proliferativo sobre células benignas, pero se observa un ligero aumento no significativo de la migración sobre las tumorales (Fig 5 A,B).

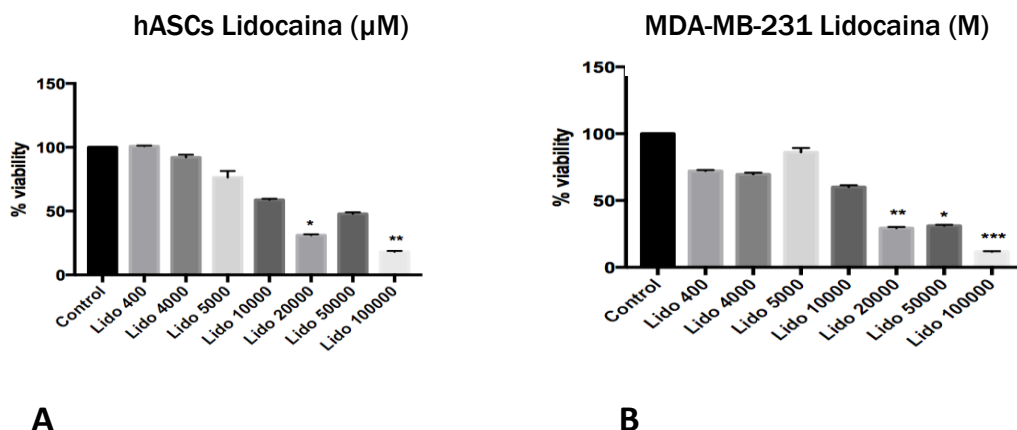


Fig 4. A. Proliferación de células hASCs con diferentes concentraciones de lidocaína, B. Proliferación de células MDA-MB-231 con diferentes concentraciones de lidocaína (μM).
 *=p<0.05; **=p<0.001; ***=p<0.0001

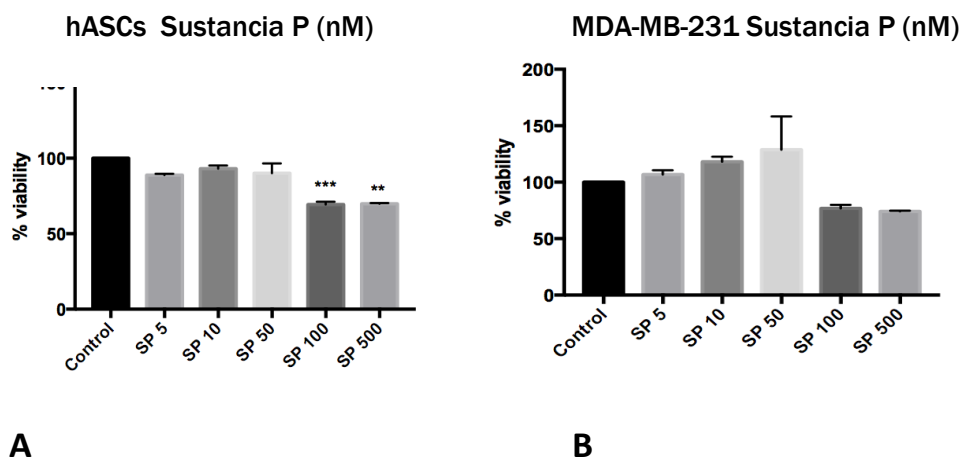
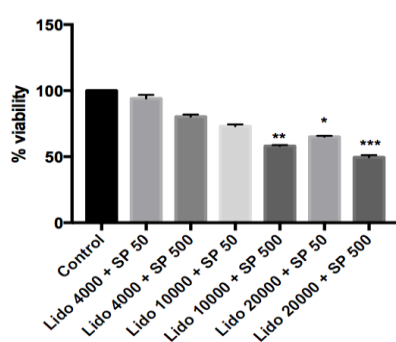
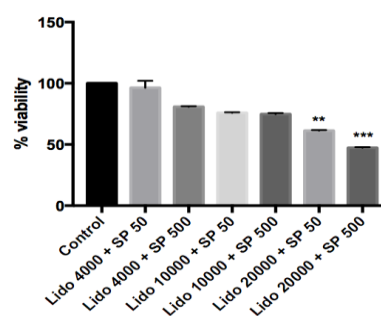


Fig 5. A. Proliferación de células hASCs y B. MDA-MB-231 con diferentes concentraciones de SP.

De nuevo, si añadimos SP al cultivo con lidocaína, ésta no es capaz de contrarrestar todo el efecto antiproliferativo de la lidocaína, pero reduce su efecto de forma significativa (60% frente a 30%) combinando esa dosis de lidocaína con Sustancia P 50nM en ambas líneas celulares (Ver figuras 4 y 6).

hASCs Lidocaina (μM) + Sustancia P (nM)

A

MDA-MB-231(μM) + Sustancia P(nM)

B

Fig 6:A. Células hASCs tras cultivo con lidocaína + sustancia P; B. Células MDA-MB-231 tras cultivo con lidocaína + sustancia P. *= $p<0.05$; **= $p<0.001$; ***= $p<0.0001$

3 DETERMINACIÓN DE SUSTANCIA P EN EL SUERO DE LAS PACIENTES SOMETIDAS A AGM FRENTE A BIP

Se realizaron mediciones de SP en las 20 muestras, que se obtuvieron, tal como se explica en los puntos anteriores, en el período preoperatorio, a la hora y a las 24 h postquirúrgicas. Se analizaron los valores de SP y se compararon las diferentes determinaciones, dividiendo por tipo de cirugía (mastectomía vs tumorectomía), (Tabla VII, VIII),(Fig 8) y por tipo de anestesia (AGM vs BIP) (Fig 7).

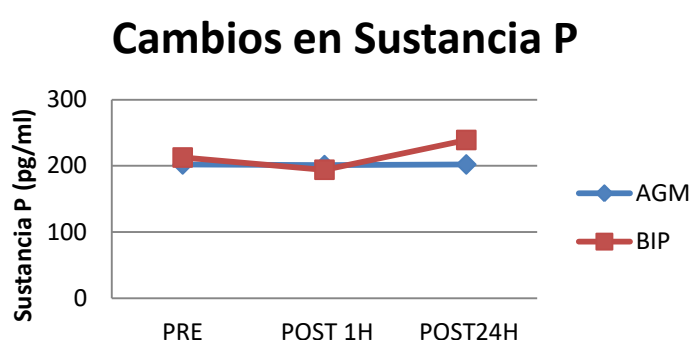


Fig 7: Cambios en los niveles séricos de SP en función del tipo de anestesia

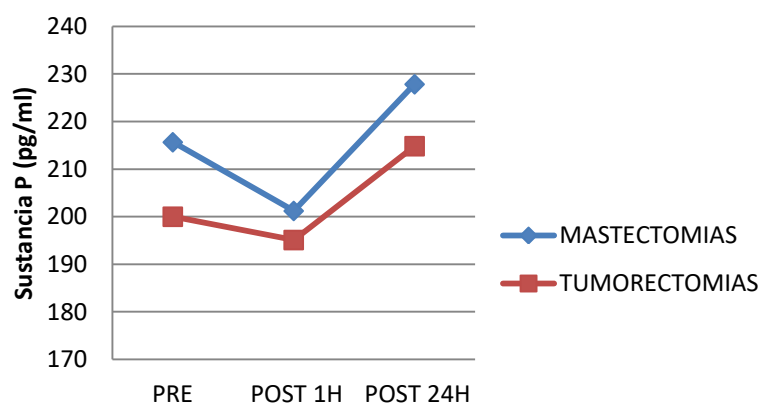


Fig 8:: Cambios en los niveles séricos de SP según el tipo de cirugía

Anestesia	Medición	Mastectomías	Tumorectomías	P
AGM o PIB	Previa	218.5 ± 71.7	202.0 ± 47.9	0.901
	Posterior 1h	206.0 ± 65.2	195.2 ± 37.9	0.869
	Posterior 24h	228.0 ± 53.7	214.8 ± 68.2	0.424
AGM	Previa	200.0 ± 43.6	202.7 ± 45.1	0.831
	Posterior 1h	186.5 ± 34.8	211.7 ± 39.3	0.201
	Posterior 24h	232.8 ± 42.4	178.0 ± 38.2	0.086
PIB	Previa	237.0 ± 95.8	196.8 ± 56.4	0.806
	Posterior 1h	225.5 ± 87.8	175.4 ± 27.7	0.327
	Posterior 24h	223.3 ± 69.7	251.6 ± 75.0	0.624

TablaVII: Comparación de las variaciones de SP en función del tipo de anestesia. Los datos se describen mediante la media y la desviación estándar.

Grupo	Cambio a la hora		Cambio a las 24 horas	
	Media ± DS	P	Media ± DS	P
Total	-8.05 ± 39.5	0.421	11.2 ± 68.7	0.500
Mastectomías	-12.5 ± 23.4	0.161	9.50 ± 49.4	0.575
Tumorectomías	-4.82 ± 49.0	0.929	12.5 ± 83.8	0.646
AGM	0.00 ± 37.6	0.959	-2.00 ± 64.7	0.594
PIB	-17.0 ± 41.9	0.260	24.3 ± 73.9	0.594

TablaVIII: Comparación de valores de SP respecto a los valores basales. Los datos se describen mediante la media y la desviación estándar.

Aunque las pacientes con mastectomías tienen niveles de SP más elevados que las pacientes a las que se realizaron tumorectomías, esta diferencia no es estadísticamente significativa, y no hayamos diferencias en los niveles de SP ni a las horas y a las 24 h postoperatorias con respecto a la situación basal, ni en función de los diferentes tipos de cirugía. (Tabla VII,VIII).

4 DETERMINACIÓN DE IL-6 E IL-10 EN EL SUERO DE LAS PACIENTES SOMETIDAS A AGM VERSUS PIB.

Analizamos las concentraciones séricas de IL-6 e IL-10 en el periodo preoperatorio, a la hora de la cirugía y a las 24h postquirúrgicas.

La IL-6 presenta un pico a la hora postoperatoria, que desciende a las 24h postoperatorias a niveles ligeramente más altos que los basales. Las concentraciones séricas no están afectadas por el tipo de anestesia que recibieron las pacientes, pero si se analiza en función del tipo de cirugía sí que existe un aumento de la concentración en las mastectomías respecto a las tumorectomías. Estos cambios no son estadísticamente significativos, pero muestran una tendencia clara (Fig 9 y 10, Tabla IX y X). Si nos fijamos en el incremento del valor medio de IL-6 a la hora es de 10.9 ± 14.4 para el grupo AGM frente a 5.4 ± 8.8 en el PIB, es decir el doble de incremento, aunque no encontremos diferencias en la concentración.

Cambios IL-6 en función del tipo de anestesia

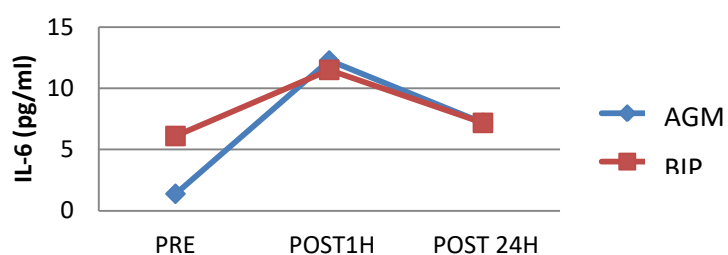


Fig 9 : Cambios séricos de la IL-6 en función del tipo de anestesia (AGM vs PIB)

Cambios de la IL-6 en función del tipo de cirugía

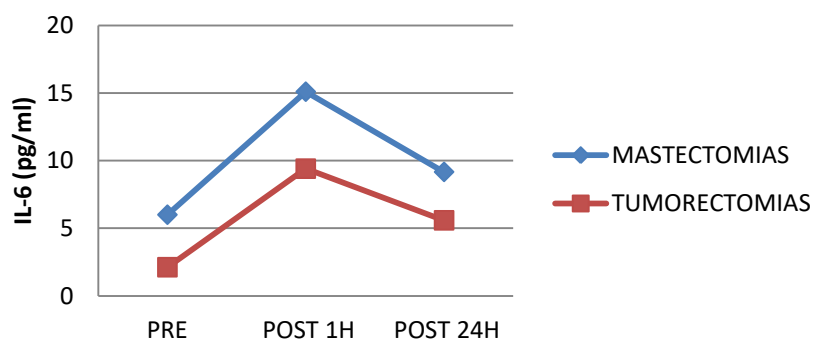


Fig 10: Cambios séricos de la IL-6 en función del tipo de cirugía

Anestesia	Medición	Mastectomías	Tumorectomías	P
General o PIB	Previa	5.6 ± 10.6	2.3 ± 2.2	0.891
	Posterior 1h	15.1 ± 3.9	9.4 ± 12.8	0.056
	Posterior 24h	9.0 ± 5.7	5.5 ± 7.4	0.073
General	Previa	0.5 ± 1.1	2.2 ± 1.5	0.090
	Posterior 1h	15.7 ± 5.6	9.6 ± 17.6	0.140
	Posterior 24h	7.5 ± 1.9	6.6 ± 10.4	0.138
PIB	Previa	10.7 ± 13.9	2.4 ± 2.9	0.319
	Posterior 1h	14.5 ± 1.9	9.2 ± 7.7	0.266
	Posterior 24h	10.5 ± 8.2	4.4 ± 3.8	0.266

Tabla IX: Cambios en IL-6 en mastectomías y tumorectomías. Los resultados se describen como la media y la desviación estándar.

Grupo	Cambio a la hora		Cambio a las 24 horas	
	Media ± DS	P	Media ± DS	P
Total	8.2 ± 11.9	0.008	3.3 ± 10.4	0.047
Mastectomías	9.5 ± 11.1	0.092	3.4 ± 13.0	0.161
Tumorectomías	7.1 ± 13.1	0.081	3.2 ± 8.5	0.538
Anestesia general	10.9 ± 14.4	0.094	5.6 ± 8.4	0.084
Anestesia PEC	5.4 ± 8.8	0.097	1.0 ± 12.2	0.313

Tabla X: Modificación de los niveles de IL-6 en función del tipo de anestesia o del tipo de cirugía. Los resultados se describen como la media y la desviación estándar.

Las pacientes sometidas a PIB presentan un descenso importante de IL-10 respecto a las pacientes operadas con AGM, pero parten de valores basales aparentemente mayores. Además, observamos valores algo más elevados en las mastectomías respecto a las tumorectomías. Estos cambios, al igual que los anteriores, tampoco son

estadísticamente significativos y sólo nos muestran tendencias. (Fig 11 y 12, Tabla XI y XII)

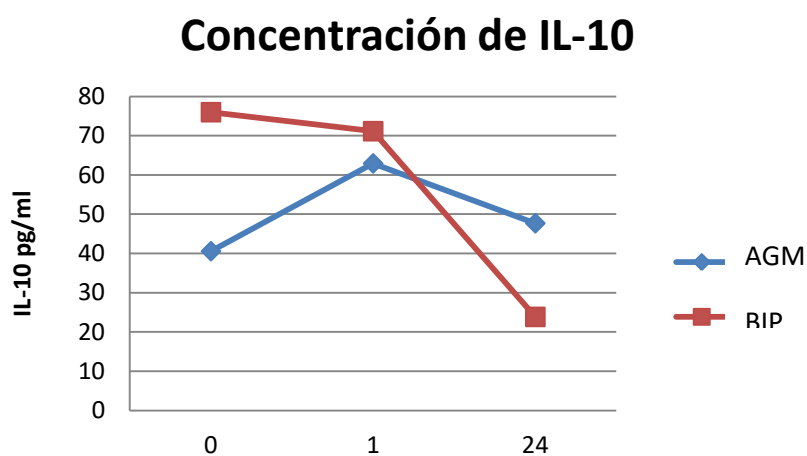


Fig 11: Cambios séricos de la IL-10 en función de la anestesia utilizada

Anestesia	Medición	Mastectomías	Tumorectomías	P
General o PIB	Previa	91.1 ± 143	39.1 ± 27.2	0.531
	Posterior 1h	89.2 ± 92.8	54.6 ± 28.7	0.847
	Posterior 24h	46.9 ± 37.9	27.2 ± 9.6	0.268
General	Previa	47.5 35.6	41.4 34.0	0.902
	Posterior 1h	75.7 ± 60.1	58.2 ± 18.7	1.000
	Posterior 24h	65.2 ± 44.7	33.8 ± 6.8	0.538
PIB	Previa	135 ± 204	36.2 ± 20.3	0.564
	Posterior 1h	103 ± 127	50.0 ± 41.0	0.866
	Posterior 24h	28.5 ± 21.1	19.0 ± 4.8	0.290

Tabla XI: Cambios en IL-10 en mastectomías y tumorectomías. Los resultados se describen como la media y la desviación estándar.

Cambios en función de la cirugía

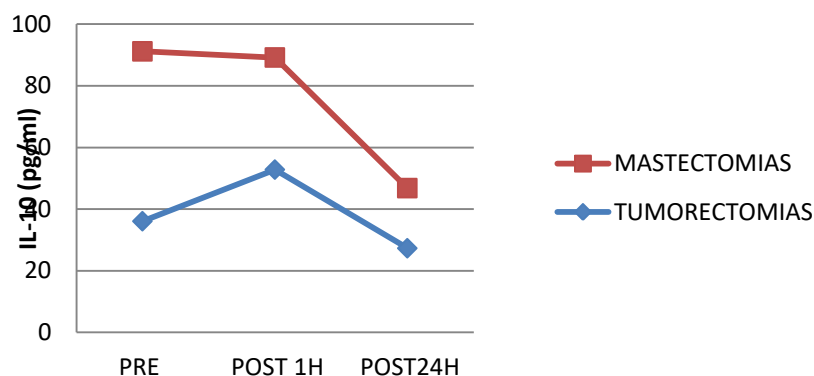


Fig 12: Diferencia de las concentraciones séricas de IL-10 en pacientes sometidas a mastectomías o tumorectomías

Grupo	Cambio a la hora		Cambio a las 24 horas	
	Media \pm DS	P	Media \pm DS	P
Total	7.3 \pm 124	0.083	-27.1 \pm 107	0.776
Mastectomías	-1.9 \pm 184	0.182	-44.2 \pm 158	0.361
Tumorectomías	15.4 \pm 34.7	0.236	-11.9 \pm 25.0	0.259
Anestesia general	21.9 \pm 27.0	0.057	3.7 \pm 29.4	0.477
Anestesia PEC	-9.1 \pm 184	0.726	-61.7 \pm 151	0.201

Tabla XII: Cambios en IL-10 a la hora y a las 24h en diferentes cirugías y con diferentes anestесias.

VI. DISCUSIÓN

1 VARIABLES CLÍNICAS

Las mastectomías o tumorectomías debidas a cáncer de mama se han realizado tradicionalmente con anestesia general. Sin embargo, cada vez existen más publicaciones que avalan el uso de diferentes técnicas loco-regionales (infiltración anestésica, bloqueo del campo, bloqueo de nervios intercostales, plexo braquial, anestesia epidural torácica, bloqueo paravertebral..).

Esto es debido a varias razones: en primer lugar el mejor control del dolor, la mayor confortabilidad de la paciente y la menor incidencia de náuseas y vómitos^{20,27-29,229} y en segundo lugar, a las evidencias que asocian un mejor pronóstico a cirugía oncológica tras la utilización de técnicas locoregionales^{2,189,200,230}.

Sin embargo, estas técnicas de anestesia loco-regional no están exentas de riesgo. Coveney *et al*²⁰ reportan en su estudio de mastectomías con catéter paravertebral casi un 3% de complicaciones, que incluyen difusión epidural del anestésico, absorción sistémica de adrenalina o neumotórax, con un porcentaje de fallo de la técnica del 9%. Webb *et al.* también describen un caso de mastectomía con reconstrucción en una paciente embarazada realizada con esta técnica²⁹, con buena tolerancia. En 2015, Sundarathiti²²⁹ en su serie de 35 pacientes, realiza anestesia paravertebral sin presentar complicaciones asociadas, encontrando diferencias significativas en el consumo de morfina postoperatorias, y menor incidencia de náuseas y vómitos, menor dolor en la escala visual y alta más precoz que con anestesia general sin bloqueo. En la misma línea encontramos múltiples publicaciones en la literatura²³¹⁻²³³ que describen mejoría en estos parámetros con catéter paravertebral frente a la anestesia general, con mínima incidencia de complicaciones y buena satisfacción de la paciente, aunque casi todos los estudios hablan de técnica con punciones únicas y en menor número con colocación de catéter.

La anestesia epidural asociada a anestesia general se asocia a una mejoría clínica ³⁶⁻³⁹ y en algunos estudios a un mejor pronóstico a largo plazo de la cirugía oncológica ^{64,200,201,234,235} si bien es cierto que con resultados bastante heterogéneos. Christopherson *et al.* encuentran una mejora de la supervivencia en el primer año y medio en pacientes que han recibido analgesia epidural y que no presentaban enfermedad diseminada en el momento de la cirugía, aunque no encuentran diferencias en pacientes con enfermedad metastásica ²⁰¹. En el estudio MASTER, llevado a cabo con 446 pacientes de 23 hospitales de Australia, Nueva Zelanda y Asia, no se logró demostrar una asociación entre anestesia epidural y mejora de la supervivencia ²³⁴. En esta misma línea, la publicación que ha incluido a mayor número de pacientes es el estudio SEER, con una cohorte de más de 42000 pacientes, donde se describe una mejora de la supervivencia asociada a la anestesia regional, con una supervivencia a 5 años del 61% en el grupo de epidural y del 55% en el grupo de general ²³⁶. Otros estudios encuentran una disminución de la recurrencia solamente en pacientes mayores de 65 años, pero no en pacientes más jóvenes ²⁰³, tal vez debido a que los pacientes de más corta edad pueden tener estirpes tumorales más agresivas.

Con todo lo anterior, y dada la amplia experiencia en anestesia loco-regional que tenemos en nuestra institución, al iniciar este estudio nos planteamos la posibilidad de realizar un bloqueo nervioso novedoso descrito recientemente, el bloqueo de las ramas cutáneas laterales y anteriores de los nervios intercostales ^{43,46}, y analizar si en pacientes sometidas a cirugía de cáncer de mama el anestésico local pudiera originar diferencias a nivel bioquímico en sangre periférica, que a la larga pudiera determinar la evolución de la enfermedad oncológica.

El bloqueo de las ramas laterales y anteriores de los nervios intercostales fue descrito por Blanco en 2011⁴³. Posteriormente se han descrito varias modificaciones en función de la zona que se precisa anestesiarse dependiendo del tipo de cirugía⁴⁶⁻⁴⁸. Este bloqueo es probablemente más eficaz para tratar el dolor que el propio bloqueo epidural ya que las ramas del plexo braquial son las responsables del dolor en la cirugía de la mama. Además, se evita el bloqueo simpático, no se usan opiáceos, es un procedimiento rápido y simple, y se logran bloquear ramas motoras y sensitivas en lugar de sólo las sensitivas como ocurriría con una infiltración simple de la herida⁴⁶.

Por el tipo de cirugía realizadas (tumorectomías o mastectomías simples o con vaciamiento), el bloqueo que se realizó fue el de las ramas laterales y anteriores de los intercostales.

Aunque las técnicas de punción epidural/paravertebral son seguras, pueden presentar complicaciones o fallos debidos a anatomías que no permiten una sensación clara de pérdida de resistencia, salida o lateralización del catéter, bloqueos segmentarios, dolor o hematoma en el punto de punción, cefalea postpunción, anestesia espinal alta, meningitis, abscesos, hematoma espinal o epidural y otros trastornos neurológicos. También hay que tener en cuenta que el bloqueo neuroaxial está contraindicado en pacientes que toman tratamiento anticoagulantes o determinados antiagregantes plaquetarios. Las complicaciones más frecuentes de la punción epidural se muestran en la Tabla XIII.

Complicaciones	Porcentaje (%)
Daño neurológico permanente	0.02-0.7*
Daño neurológico transitorio	0.01-0.8*
Toxicidad sistémica del AL	0.2-0.01*
Parada cardíaca	0.064*
Convulsiones	0.0001 *
Paraplejia	0.00003 *
Abcesos	0.0001-0.0001†
Meningitis	0.0001•

TablaXIII: *Datos de Faccenda et al. *Drugs saf*, 2001, • Auroy et al, *Anesthesiology* 1997²³⁷,
†Grewal et al, *BJA*²³⁸, Auroy et al, *anesthesiology* 2002•²³⁹

Aunque las técnicas para la realización de los bloqueos periféricos ecoguiados son relativamente sencillas para los anestesiólogos habituados, también existe un porcentaje de fallos y complicaciones.

Según el registro de complicaciones de anestesia regional que se llevó a cabo en Francia desde agosto de 1998 a Mayo de 1999 en el que se incluyeron 158.083 anestесias, se describen 3 casos de pacientes que presentaron convulsiones tras diferentes bloqueos del plexo braquial

(axilar, supraclavicular o medio humeral) y 3 neuropatías periféricas en caso de bloqueos axilares y medio humerales. El número total de pacientes que participaron en el estudio y a los que se realizó técnicas de bloqueo periférico fue de 23784²³⁹.

Actualmente no existen registros de los porcentajes de complicaciones al realizar el bloqueo intercostal. Blanco *et al.* insisten en que es una técnica sencilla y ellos no reportan ninguna complicación en sus pacientes. Tal vez la complicación que pueda aparecer en mayor número de casos es el hematoma en la zona, neumotórax o la punción vascular con absorción sistémica del anestésico local (rama pectoral de la arteria acromiotorácica)⁴⁶.

En nuestra muestra llama la atención que el consumo de fentanilo intraoperatorio es igual en ambos grupos. Esto es debido a que la técnica se realiza tras la inducción de la anestesia general, e inmediatamente después se procede al inicio de la cirugía, de manera que probablemente no da tiempo a que se instaure el bloqueo, por lo que ya se habrían administrado los morfínicos necesarios para la mayor parte de la cirugía.

El dolor postoperatorio estuvo perfectamente controlado en aquellas pacientes a las que se realizó el bloqueo, y ninguna demandó analgesia extra en su estancia en la unidad de recuperación, con un EVN medio a la hora de 1.3. Probablemente debido al menor uso de morfínicos en el postoperatorio en el grupo BIP tampoco presentaron náuseas ni vómitos.

Llama la atención el alto grado de satisfacción en ambos grupos, independientemente de la analgesia postoperatoria que precisaran. Nosotros lo achacamos a que lo que más valoran las pacientes que se someten a este tipo de cirugía, con gran carga emocional, es el sentirse atendidas y escuchadas a lo largo de todo el periodo postoperatorio, y que se les explique la cirugía y las técnicas que se van a realizar de forma detallada. Tal vez asuman cierto grado de dolor como lógico tras una cirugía de estas características.

2 ESTUDIO PRELIMINAR CON LIDOCAÍNA Y SUSTANCIA P

Los anestésicos locales son fármacos ampliamente utilizados que se administran por diferentes vías (tópica, intravenosa, transdérmica, espinal, epidural, perineural...). Sin embargo si se utilizan a dosis mayores de las recomendadas o se produce una rápida absorción intravascular tienen efectos tóxicos fundamentalmente a nivel neural y cardiaco pudiendo llegar a poner en peligro la vida del individuo. Esto es infrecuente tomando las medidas adecuadas en cuanto a la técnica y a la dosis total.

Tras la anestesia loco-regional, parte del anestésico se absorbe provocando acciones antiinflamatorias que son independientes de su mecanismo de actuación a nivel de los canales de sodio^{211,240}, como la estimulación de proteínas de membrana, de las enzimas catalíticas (protein-quinasas y fosfolipasas) o interacciones con los receptores β -adrenérgicos y de neurokininas²⁴⁰.

Antes de realizar las mediciones de interleuquinas y SP en el suero de nuestras pacientes, realizamos un estudio preliminar para comprobar el efecto de diferentes concentraciones de AL (Lidocaína) y SP sobre células tumorales (MDA-MB-231) y sobre células madre mesenquimales (hASCs) y de cáncer de mama, *in vitro*.

Elegimos estas líneas para el estudio *in vitro* porque las células madre mesenquimales son progenitores clonales de tejidos no hematopoyéticos con gran tropismo por heridas y tumores que se reclutan desde el torrente sanguíneo hacia heridas en curación o tejidos en crecimiento a través de diferentes citoquinas y factores de crecimiento. Por tanto, aunque son de características benignas, presentan algunas similitudes con las células cancerígenas²⁴¹ por su

capacidad proliferativa. Se eligió la línea tumoral MDA-MB-231 por ser la disponible en el laboratorio y estar autenticada.

La inhibición de la proliferación o la migración de las células tumorales por los anestésicos locales y su citotoxicidad sobre algunas células representa un mecanismo importantísimo mediante el cual los AL aplicados en el período perioperatorio podrían ayudar a prevenir las metástasis perioperatorias, y mejorar la supervivencia a largo plazo de los pacientes que se someten a cirugía oncológica. Irónicamente, la misma inhibición sobre células mesenquimales podría retrasar la cicatrización de la herida.

A partir de 5000 μ M encontramos que la lidocaína produce citotoxicidad, provocando por tanto muerte celular. Werdenhausen *et al* encuentran apoptosis en su estudio a concentraciones entre 3 y 6 μ M, mientras que publican citotoxicidad en su estudio a partir de 10000 μ M²²².

Está demostrado por múltiples estudios que tanto la lidocaína²⁴¹ como otros AL (Bupivacaína^{197,242} ropivacaína¹⁹⁷, e incluso los tópicos usados en oftalmología²¹⁴) pueden producir apoptosis a determinadas concentraciones y citotoxicidad a otras¹⁹⁷. Algunos encuentran estos efectos incluso a concentraciones de uso clínico. La muerte celular se puede producir por diferentes mecanismos, bien mediante la activación de las caspasas mitocondriales²⁴³, o por mecanismos independientes como la desmetilación del ADN²⁴². Si bien es verdad que hay estudios que obtienen resultados contradictorios y no han podido demostrar que exista apoptosis a concentraciones clínicas¹⁹⁶. Este efecto se podría emplear para regular la proliferación de células tumorales.

Si nos centramos en el cáncer de mama, Yokosuka demostró en el 2007 que la procaína favorece la desmetilación del ADN e inhibe el crecimiento de la líneas de cáncer de mama²¹². Tada demostró lo mismo en las de hepatocarcinoma humano²²⁵. En estudios recientes, se ha descrito que la lidocaína también origina la desmetilación del ADN de

forma tiempo y dosis dependiente en líneas de cáncer de mama *in vitro*^{226,244}.

Miyamoto asocia esta acción citotóxica a determinadas isoformas del anestésico y también afirma que es un efecto dosis dependiente²⁴⁵.

Tal como se ha descrito previamente, encontramos que la lidocaína a dosis altas (>10000µM) produce apoptosis celular. A concentraciones menores, ente 400 y 5000µM, produce una disminución de la migración dosis dependiente. Esto es debido a que tanto la lidocaína como otros AL (tetracaína), son capaces de inhibir la reorganización de microtúbulos que favorecen el desarrollo de microtentáculos de tubulina necesarios para la motilidad celular. La formación de estos microtentáculos constituye el paso previo a la migración de células metastásicas, facilitando la separación de la matriz extracelular y la nueva reorganización en el “sitio huésped”. Yoon *et al* demostraron que algunos AL son capaces de inhibir esta formación *in vitro* a dosis no tóxica²⁴⁶.

De la misma forma, encontramos que a dosis bajas la lidocaína inhibe la proliferación de las células tumorales de forma mucho más potente que de las células mesenquimales. (69% de viabilidad vs 92%, con lidocaína a 400µM). Esta acción diferencial sobre las dos estirpes celulares ya ha sido descrita por diferentes estudios previos^{193,247} y abre nuevas líneas terapéuticas a la combinación de AL con agentes quimioterápicos específicos, favoreciendo tanto la apoptosis como la citotoxicidad sobre células tumorales, permitiendo así, en cierta medida, preservar las células sanas²¹². Esto podría ser debido, tal como se ha comentado en el apartado anterior, a la desmetilación del ADN que la lidocaína produce en las células de cáncer de mama²¹².

Ya que la SP parece esencial como intercomunicación entre las células tumorales, favoreciendo su proliferación y su migración, quisimos valorar su efecto sobre las células tumorales y mesenquimales y además añadir lidocaína para comprobar si presentaban efectos antagónicos. Al cultivar las células solamente con SP, comprobamos que

existe un aumento de la migración sobre células cancerígenas (más del 20%), mientras que sobre las células benignas no parece que tengan ningún efecto. Respecto a la proliferación, los resultados son contradictorios, ya que en nuestros cultivos no muestran incremento, mientras que Chen en su estudio afirma que produce aumento tanto de migración como de proliferación en células de cáncer colorrectal⁸⁴.

En último lugar, quisimos comprobar si la adición de SP a los cultivos con lidocaína tiene algún efecto antagónico de la acción del AL. La SP no es capaz de contrarrestar toda la inhibición de proliferación que produce el AL, pero se reduce el efecto de la lidocaína de forma significativa. Predomina, en función de la concentración, el efecto inhibidor ya publicado de ésta última²⁴⁸.

La unión de la SP al NK1r es responsable del inicio de la angiogénesis, proliferación celular, migración y como estadio final, metástasis. Li *et al*, demostraron que los anestésicos locales impedían la unión de la SP a su receptor tras una anestesia espinal²⁴⁰. Este efecto podría explicar la interferencia o competición entre la lidocaína como inhibidor y la sustancia P como inductor de la proliferación que hemos demostrado en nuestro estudio *in vitro*.

En el caso de la ropivacaína, la citotoxicidad está mediada por acciones caspasa dependientes, tal como confirma Kang en su estudio²⁴⁹, con células de melanoma humano²⁵⁰.

3 ESTUDIO DE SUSTANCIA P, IL-6 E IL-10 EN EL SUERO DE LAS PACIENTES INTERVENIDAS DE CÁNCER DE MAMA

Como se ha comentado en diferentes puntos a lo largo del documento, el período perioperatorio es un momento asociado a inmunodepresión y estrés mediado por diferentes mecanismos, que pueden desembocar en el desarrollo de enfermedad metastásica, incluso en situaciones en los que la extirpación del tumor primario es aparentemente completa.

El trauma quirúrgico origina una inmunosupresión de la inmunidad celular, ya que existe una función deficiente de las células NK y una alteración de los niveles de citoquinas.

Las citoquinas tienen un papel muy importante en la inflamación aguda y en la respuesta inmune. Presentan efectos a nivel local y sistémico, tanto con carácter pro como antiinflamatorio, y se conoce que niveles elevados de algunas están asociados a mayor incidencia de complicaciones postoperatorias.

Se ha propuesto, así mismo, que la anestesia regional asociada a anestesia intravenosa puede reducir la respuesta al estrés y la inmunosupresión causada por la cirugía al evitar o disminuir el uso de halogenados y de opiáceos.

Por lo anteriormente expuesto, realizamos mediciones de dos interleucinas y de SP pre y postoperatorias para confirmar si realmente estos cambios se producen no solamente a nivel local, donde están ampliamente documentados, sino también a nivel sistémico, llegando a producir diferencias en los niveles de citoquinas en suero obtenido de sangre periférica.

Aunque se conoce que la unión SP/NK1 juega un papel importante en la progresión del cáncer, se desconoce su papel exacto.

Hay diferentes estudios que han demostrado un aumento de la expresión de SP/NK1 en células tumorales de cáncer colorrectal y en tejido adyacente⁸⁴, así como en otras células tumorales como en el cáncer de páncreas²⁵¹.

La SP es un péptido en alza en los últimos años, cuyos niveles en suero están relacionados con fenómenos tan dispares como la predicción de embarazos clínicos tras técnicas de reproducción asistida²⁵², disminución de neumonías tras traumatismos cerebrales²⁵³, o mortalidad en pacientes con infarto cerebral²⁵⁴ o en sepsis²⁵⁴ entre otros. Además hay un interés creciente en la posible utilidad de los antagonistas de los receptores NK1 en diferentes terapias^{255,256}.

Sin embargo en relación con el cáncer, no hemos encontrado ningún estudio que haya realizado una medición de sustancia P en el suero de pacientes sometidos a cirugía oncológica, que nos indiquen si existe aumento a nivel sistémico o si este aumento está afectado por el tipo de anestesia o por la duración de la cirugía.

La SP secretada por las neuronas modula la proliferación de células inflamatorias y la producción de citoquinas. Además, algunas células inmunes presentan también la capacidad de segregar SP, que juega un papel importante en la comunicación, proliferación y modulación de la respuesta inmune²⁵⁷ y ejerce un efecto directo sobre las células NK, favoreciendo su migración y su citotoxicidad. Es más, el receptor NK1 puede ser expresado por células NK humanas. Por lo tanto la SP puede ser una unión entre estructuras neurales e inmunidad innata²⁵⁸.

García Recio observó que la estimulación con SP en líneas de cáncer de mama favorece la malignización del tumor, aunque en un modelo de inflamación crónica demuestra que la liberación de SP de forma continua durante 28 días no aumenta el tamaño tumoral, pero sí favorece un aumento de HER2 en los tumores expuestos, y que los antagonistas NK1-r, inhiben el crecimiento tumoral en HER2 negativos²⁵⁶.

En nuestro experimento, observamos que la concentración de SP en suero prácticamente no varía ni a la hora ni a las 24 h respecto al valor basal. Lo que sí encontramos es un aumento de valores de SP en mastectomías respecto a tumorectomías, es decir, está más elevado en aquellas pacientes con tumores más grandes y por tanto sometidas a procedimientos quirúrgicos más largos y agresivos.

Los niveles de SP aumentan ligeramente a las 24 h de la cirugía, debido al proceso de inflamación que ocurre tras el trauma quirúrgico, y deberían empezar a disminuir a las 36-48h, cuando comienza a descender el proceso inflamatorio para comenzar el antiinflamatorio.

Aunque en la literatura no hemos encontrado bibliografía que analicen valores séricos de SP tras bloqueos regionales, Carvalho *et al* realizaron en su trabajo mediciones a nivel local en pacientes tras una perfusión de bupivacaina a dosis bajas. Ellos encontraron que frente a las pacientes a las que se les colocaba perfusión de suero salino, la perfusión de AL originaba un aumento en los niveles locales de SP, asociándolo a una alteración de los mecanismos antiinflamatorios²⁵⁹.

Por lo tanto, con la dosis de AL que hemos utilizado (20 ml de chirocane 0.25%; 50 mg) la levobupivacaína no afecta a los niveles de SP a nivel sistémico, pero no sabemos si modifica los niveles a nivel local.

Tanto la IL-6 como la IL-10 son citoquinas multifuncionales secretadas por diferentes tipos celulares y que juegan un papel importante en la defensa del huésped y en la modulación del sistema inmune.

La IL 6 es una interleucina proinflamatoria que se asocia con diferentes aspectos del tumor de mama como la aparición de metástasis y la disminución de la supervivencia, y puede ser un marcador de tumor activo, ya que actúa como mediador de la agresividad y del crecimiento tumoral²⁶⁰, considerándose los niveles elevados de IL-6 en las pacientes diagnosticadas de cáncer de mama como factor pronóstico negativo. Es más, su elevación crónica se ha propuesto por algunos autores como

factor predictivo de desarrollo tumoral, sugiriendo que la exposición crónica a niveles elevados de IL 6 está asociada con aumento de daño hepático y desarrollo de cáncer hepático en modelos animales²⁶¹. Wong *et al* demostraron que pacientes que desarrollaron cáncer presentaron niveles elevados de IL-6 dos o tres años antes de presentar la enfermedad.²⁶²

Además de ser un marcador de inflamación^{127,263,264}, su aumento y su efecto proinflamatorio se ha demostrado *in vitro* también en diferentes líneas de cáncer de próstata y hepatocelular²⁶⁵ produciendo en todas ellas un aumento de la proliferación⁷⁴. Ya se ha propuesto el receptor soluble de la IL-6 como un nuevo objetivo en las terapias antitumorales.

Asimismo, se ha documentado que la inyección de IL-6 en células no metastásicas de carcinoma hepatocelular las transforma en altamente invasivas²⁶⁵. También se ha propuesto que inhiben las células NK, favoreciendo caminos de escape del sistema inmunitario.

En nuestras mediciones encontramos un cambio significativo en los niveles de IL-6 a la hora y a las 24 h respecto a los niveles basales. Es curioso como las curvas de IL-6 son paralelas en las mastectomías y en las tumorectomías, estando en las primeras más elevados incluso los niveles basales. Esto puede ser debido a que estas pacientes tenían tumores más agresivos o de mayor tamaño, presentando por tanto una elevación basal de la IL-6. En la muestra tomada a la hora tras la cirugía los valores siguen siendo mayores en las mastectomías (15pg/ml vs 9 pg/ml), y aunque a las 24h el valor en ambas ha descendido siguen siendo más elevados en el primer caso (9 pg/ml vs 6 pg/ml).

No encontramos diferencias en la cirugía que se realizó con anestesia general y en la que se realizó con bloqueo intercostal. A la hora existe un pico sérico, que se asocia al pico de la respuesta

inflamatoria, para luego descender a niveles ligeramente mayores que los basales a las 24h en los dos grupos.

Seguramente las concentraciones de anestésico local son suficientemente altas en la zona de punción como para provocar cambios a nivel próximo, pero son muy bajas para producir cambios en las concentraciones de IL a nivel sanguíneo. No existen tampoco diferencias significativas respecto a los valores previos que se tomaron como control.

La IL-10 es un mediador endógeno que actúa como IL antiinflamatoria al inhibir la producción de otras IL proinflamatorias, aunque su papel real no está claro y en realidad parece bastante contradictorio. Se ha propuesto como una IL con papel en la proliferación celular y supervivencia en linfomas de células B ²⁶⁶, así como en el cáncer colorrectal ⁷⁴ y en el hepatocarcinoma, donde es secretado por las propias células tumorales²⁶⁵, además de en lugares donde existen procesos inflamatorios crónicos. Pérez Asensio y su equipo también demostraron que puede actuar como un factor de crecimiento favoreciendo la neurogénesis⁷⁷.

En la leucemia linfoblástica aguda, sin embargo, parece que es la ausencia de IL-10 lo que aumenta el riesgo de cáncer en la población pediátrica ²⁶⁷. Así mismo, cada vez mayor evidencia sugiera que la IL-10 está involucrada en la progresión del cáncer de próstata ²⁶⁸, de mama ²⁶⁹ y pulmonar ²⁷⁰. Sin embargo, un estudio llevado a cabo en 2015 por investigadores chinos en conjunto con noruegos muestran que la IL -10 tiene un efecto opuesto, inhibiendo la proliferación, el crecimiento y la migración de dos líneas celulares de cáncer de próstata *in vitro* (PC-3 y LNCaP), mostrando una disminución en la expresión de mediadores, y lo que es más importante clínicamente, aumentó la sensibilidad a agentes quimioterápicos como el docetaxel⁷⁴.

Al tener un papel inmunosupresor, podría favorecer el desarrollo de procesos neoplásicos debido a la inhibición que ejerce de la activación de macrófagos y de la producción de INT y, fundamentales

para la eliminación de células tumorales, favoreciendo así la supervivencia de las células tumorales y la aparición de metástasis²⁶⁵.

En nuestro estudio nosotros no encontramos diferencias significativas comparando los niveles obtenidos a la hora y a las 24h respecto a los valores previos. Curiosamente encontramos una diferencia importante entre los niveles basales de ambos grupos, siendo más del doble en las pacientes que van a ser sometidas a mastectomías que a tumorectomías, por tanto tal vez en el cáncer de mama sí que exista una relación entre el grado de enfermedad y el nivel de interleucina tal como sugieren Lian *et al*²⁶⁹.

A la hora de la cirugía llama la atención el aumento de IL-10 en las pacientes sometidas a tumorectomía. Podría relacionarse este hecho con la manipulación del tumor, mayor en la tumorectomía, ya que en la mastectomía se quita la pieza entera. A las 24 horas de la cirugía las cifras descienden en ambos grupos.

Kozlowski y su equipo en 2002 midieron diferentes IL en el suero de pacientes con cáncer de mama. Ellos llegaron a la conclusión de que tanto la IL 6 como la IL 10 están aumentadas en el suero de estas pacientes respecto a pacientes sanas, y además se relacionan con el estadio clínico de la enfermedad²⁷¹. Nuestros resultados son concordantes con los de ellos, encontrando niveles más elevados de estas IL en pacientes sometidas a cirugías más agresivas. Bhattacharjee encuentra que la IL-10 presenta una asociación estadísticamente significativa con la enfermedad localmente avanzada y con el grado de agresividad tumoral²⁷².

A la hora de la cirugía encontramos elevación de la IL-10 en las pacientes sometidas a AG, aunque encontramos una ligera disminución respecto a los valores basales en las pacientes sometidas a BIP (diferencias no estadísticamente significativas). Sultan encuentra resultados similares a los nuestros²⁷³, sin encontrar diferencias en su estudio en función del tipo de anestesia, y Ahlers, en su estudio con catéter epidural para cirugía de cáncer de mama también confirma una

elevación de los niveles de IL-10 en las primeras 24h postquirúrgicas ²⁷⁴. En esta línea, Purper *et al* describen que la lidocaína intravenosa en colecistectomías laparoscópicas disminuía la IL-6 pero aumentaba la IL-10. Ellos lo asocian el efecto antiinflamatorio de esta última ²⁷⁵.

Por tanto, los niveles séricos de IL 10 no guardan relación con el tipo de anestesia, y su verdadero papel ya sea como citoquina antiinflamatoria, marcadora de pronóstico o pro-estimulante requiere otros estudios prospectivos con diferentes anestesias. Es además posible que la administración de lidocaína iv o epidural pueda influir más en los niveles sistémicos que un bloqueo periférico como el que hemos utilizado.

Para finalizar esta discusión queremos reseñar el efecto beneficioso del sencillo bloqueo realizado para el control del dolor, la reducción el consumo de opioides y las náuseas postoperatorias. Al realizarse con la paciente dormida y en decúbito supino es fácil de llevar a cabo sin aumentar la ansiedad de los pacientes. Sólo por ese motivo estaría indicado plantear ésta u otra técnica de anestesia regional en la cirugía de mama.

No hemos podido poner en evidencia modificaciones de IL-6, IL-10 o de SP en suero en nuestras pacientes, quizás por la duración de la exposición, la dosis administrada de anestésico local, la inclusión de tumorectomías y mastectomías o por tratarse de diferentes tipos de tumor.

En cuanto al experimento *in vitro*, la SP tiene un efecto proliferativo que hemos confirmado, más potente sobre células malignas, y hemos sido capaces de interferir este efecto con la lidocaína a nivel local. Es lógico pensar que infiltrar la zona a resear y realizar bloqueos de proximidad podrían reducir la liberación de SP o bloquear su efecto, reduciendo el riesgo de recidiva.

Mientras se obtienen resultados de estudios prospectivos, las evidencias disponibles nos hacen pensar que una anestesia multimodal, evitando halogenados y morfina, administrando AINES, haciendo mantenimiento con propofol y reduciendo el consumo de opioides en el postoperatorio gracias al uso de técnicas loco-regionales o lidocaína intravenosa, podría tener un impacto a medio y largo plazo en la cirugía oncológica.

VII. CONCLUSIONES

1. El bloqueo ecoguiado de las ramas cutáneas intercostales laterales y anteriores es una técnica analgésica que reduce el dolor, el consumo de opioides y la incidencia de náuseas y vómitos postoperatorios.
2. La lidocaína es citotóxica a dosis altas y disminuye la migración de las células madre mesenquimales y de las células tumorales de la línea MDA-MB-231 *in vitro*.
3. La lidocaína inhibe la proliferación de células madre mesenquimales y de forma más potente de las células tumorales.
4. La Sustancia P reduce el efecto antiproliferativo de la lidocaína de forma significativa.
5. Los niveles séricos de Sustancia P no están afectados por el tipo de anestesia utilizada, disminuyendo tras la cirugía y aumentando a las 24h.
6. No existen diferencias en los niveles de IL-6 en los dos grupos, AGM y BIP, aumentando en ambos tras la cirugía y disminuyendo a las 24h postquirúrgicas.
7. No existen diferencias entre los dos grupos en los valores de IL-10, disminuyendo en ambos de forma significativa a las 24h tras la cirugía.
8. Existe una tendencia a que los niveles basales en suero de IL-6 y de IL-10 se encuentren más elevados en las pacientes sometidas a mastectomías que en las que se realizó tumorectomías.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. AECC.
<https://www.aecc.es/SobreElCancer/CancerPorLocalizacion/CancerMama/Documents/Mama_2014.pdf>
2. Evans, D.; Fowler-Williams, C. Is Volatile Anesthesia During Cancer Surgery Likely to Increase the Metastatic Risk? *Int. Anesthesiol. Clin.* **54**, 92–107 (2016).
3. Pérez-Zúñiga, I. *et al.* Resonancia magnética de mama y sus aplicaciones. *Gac. Mex. Oncol.* **11**, 268–280 (2012).
4. Ghimire B, Khan MI, Bibhusal T, *et al.* Accuracy of triple test score in the diagnosis of palpable breast lump. *JNMA* **47**, 189–192 (2008).
5. Morris KT, Pommier RF, Morris A, *et al.* Usefulness of the triple test score for palpable breast masses. *Arch Surg* **136**, 1008–1013 (2001).
6. Bast RC Jr, R. P. *et al.* 2000 update of recommendations for the use of tumor markers in breast and colorectal cancer: Clinical practice guidelines of the American Society of Clinical Oncology. *J clin Oncol* **19(6)**, 1865–1878 (2001).
7. Lumachi F, S. DA. Current medical treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. *World J Biol Chem.* **August 26**;; 231–9 (2015).
8. Lumachi F, Brunello, A, Maruzzo, M. Treatment of estrogen receptor-positive breast cancer. *Curr. Med. Chem.* **20**, 596–604 (2013).
9. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho J S. Triple-negative breast cancer. *N. Engl. J. Med.* **363**, 1938–1948 (2010).
10. Liedtke C, Mazouni C, Hess KR, *et al.* Response to neoadjuvant therapy and long term survival in patients with triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol* **26**, 1275–81 (2008).
11. Colleoni M, C. B. *et al.* Classical cyclophosphamide, methotrexate, and fluorouracil chemotherapy is more effective in triple-negative, nodenegative breast cancer: results from two randomized trials of adjuvant chemoendocrine therapy for node-negative breast cancer. *J Clin Oncol* **28**, (2010).
12. Picot J, Copley V, Colquitt JL, Kalita N, Hartwell D, B. J. The INTRABEAM® Photon Radiotherapy System for the adjuvant treatment of early breast cancer: a systematic review and economic evaluation. *Heal. Technol Assess* **Aug 19 (69)** 1–190 (2015).
13. Delpech Y, Breast cancer surgery. *Rev Prat* **Dec;63, (10)** 1395–9 (2013)
14. Halsted CP, B. J. A historical account of breast cancer surgery: beware of local recurrence but be not radical. *Futur. oncol* **10**, 1649–57 (2014).
15. MP, O. William Stewart Halsted: his life and contributions to surgery. *Lancet Oncol.* **Mar; 8(3)**, 256–65 (2007).

16. Izuo, M. Medical history: Seishu Hanaoka and his success in breast cancer surgery under general anesthesia two hundred years ago. *Breast Cancer* **11**, 319–324 (2004).
17. <http://www.madrid.org/cs/Satellite?cid=1142568436956&language=es&pag eid=1142584387976&pagename=PortalSalud%2FPTSA_Generico_FA% 2FPTSA_pintarGenericoSabiasQue&vest=1142584387976>
18. Matsuki, A. [A study on Seishu Hanaoka's 'Nyugan Seimei Roku': a name list of breast cancer patients]. *Nihon Ishigaku Zasshi*. **48**, 53–65 (2002).
19. <<http://www.general-anaesthesia.com>>
20. Coveney, E. *et al.* Use of paravertebral block anesthesia in the surgical management of breast cancer: experience in 156 cases. *Ann. Surg.* **227**, 496–501 (1998).
21. Carlson, G. W. Total mastectomy under local anesthesia: the tumescent technique. *Breast J.* **11**, 100–102 (2005).
22. Devereux, D. F. Successful treatment of stages IIIa and IIIb carcinoma of the breast by mastectomy in the elderly high risk patient using local anesthesia. *Surg. Gynecol. Obstet.* **165**, 38–40 (1987).
23. Falco, E., Celoria, G., Nardini [Modified radical mastectomy in local anesthesia]. *Minerva Chir.* **48**, 847–849 (1993).
24. Tam, K.-W. *et al.* Effect of wound infiltration with ropivacaine or bupivacaine analgesia in breast cancer surgery: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Int. J. Surg.* **22**, 79–85 (2015).
25. Byager N, Hansen MS, *et al.* The analgesic effect of wound infiltration with local anaesthetics after breast surgery: a qualitative systematic review. *Acta Anaesthesiol. Scand.* **58**, 402–410 (2014).
26. Yilmaz, O. T. *et al.* Effects of surgical wound infiltration with bupivacaine on postoperative analgesia in cats undergoing bilateral mastectomy. *J. Vet. Med. Sci.* **76**, 1595–1601 (2014).
27. Marret E, Vigneau A, Salengro A, Noirot A. [Effectiveness of analgesic techniques after breast surgery: a meta-analysis]. *Ann. Fr. Anesth. Reanim.* **25**, 947–954 (2006).
28. Tahiri, Y. *et al.* General anaesthesia versus thoracic paravertebral block for breast surgery: a meta-analysis. *J. Plast. Reconstr. Aesthet. Surg.* **64**, 1261–1269 (2011).
29. Webb C AJ, Weyker P D, Cohn S, Right Breast Mastectomy and Reconstruction with Tissue Expander under Thoracic Paravertebral Blocks in a 12-Week Parturient. *Case Rep. Anesthesiol.* **2015**, 842725 (2015).
30. Agarwal R R, Wallace AM, Single-injection thoracic paravertebral block and postoperative analgesia after mastectomy: a retrospective cohort

- study. *J. Clin. Anesth.* **27**, 371–374 (2015).
31. Ono K, Danura T. [Combined use of paravertebral block and general anesthesia for breast cancer surgery]. *Masui.* **54**, 1273–1276 (2005).
 32. Kairaluoma P M, Bachmann M S, Korpinen A K. Single-injection paravertebral block before general anesthesia enhances analgesia after breast cancer surgery with and without associated lymph node biopsy. *Anesth. Analg.* **99**, 1837–43 (2004).
 33. Starnes-Ott K, Goravanchi F, Meininger J. Anesthetic choices and breast cancer recurrence: a retrospective pilot study of patient, disease, and treatment factors. *Crit. Care Nurs. Q.* **38**, 200–210 (2015).
 34. Mohamed S A, Fares K M, Mohamed A A, Alieldin N H. Dexmedetomidine as an adjunctive analgesic with bupivacaine in paravertebral analgesia for breast cancer surgery. *Pain Physician* **17**, 589–98 (2014).
 35. Bhuvaneswari J, et al. Post-operative pain and analgesic requirements after paravertebral block for mastectomy: A randomized controlled trial of different concentrations of bupivacaine and fentanyl. *Indian J. Anaesth.* **56**, 34–39 (2012).
 36. Shir Y, Raja S N, Frank S M. The effect of epidural versus general anesthesia on postoperative pain and analgesic requirements in patients undergoing radical prostatectomy. *Anesthesiology* **80**, 49–56 (1994).
 37. Belzarena S D. Comparative study between thoracic epidural block and general anesthesia for oncologic mastectomy. *Rev. Bras. Anesthesiol.* **58**, 561–568 (2008).
 38. Yeh, C. C. *et al.* Thoracic epidural anesthesia for pain relief and postoperation recovery with modified radical mastectomy. *World J. Surg.* **23**, 251–256 (1999).
 39. Doss, N. W. *et al.* Continuous thoracic epidural anesthesia with 0.2% ropivacaine versus general anesthesia for perioperative management of modified radical mastectomy. *Anesth Analg* **92**, 1552–1557 (2001).
 40. Singh, A. P., Tewari, M., Singh, D. K. & Al, E. Cervical epidural anesthesia: a safe alternative to general anesthesia for patients undergoing cancer breast surgery. *World J. Surg.* **30**, 2043–2049 (2006).
 41. Jadon, A. & Agarwal, P. *et al.* Cervical Epidural Anaesthesia for Radical Mastectomy and Chronic Regional Pain Syndrome of upper limb-A Case Report. *Indian J Anaesth* **53**, 696–699 (2009).
 42. Kaya, M., Oguz, G., Senel, G. & Al, E. Postoperative analgesia after modified radical mastectomy: the efficacy of interscalene brachial plexus block. *J. Anesth.* **27**, 862–867 (2013).
 43. Blanco, R. The ‘pecs block’: a novel technique for providing analgesia after breast surgery. *Anaesthesia* **66**, 847–848 (2011).

44. <www.arydol.es/ultrasonografia-bloqueo ionterpectoral.php>
45. Haydon, N. B., van der Rijt, R., Downs, C. & Buckland, G. A Novel Technique of Intraoperative Lateral Pectoral Nerve Block During Subpectoral Breast Implant Placement. *Plast. Reconstr. Surg. - Glob. Open* **4**, e646 (2016).
46. Blanco R, Fajardo M, Parras Maldonado T. Ultrasound description of Pecs II (modified Pecs I): a novel approach to breast surgery. *Rev. española Anestesiología y Reanimación*. **59**, 470–5 (2012).
47. Pérez, M. F., Miguel, F. J. G., Álvarez, S. L. & Al, E. Bloqueo de las ramas cutáneas laterales y anteriores de los nervios intercostales para analgesia de mama. *Cir. Mayor Ambulatoria* **17**, 95–104 (2012).
48. Fajardo M, López S, Diéguez P. Abordaje ecoguiado de las ramas cutáneas de los nervios intercostales a nivel de la línea media axilar para cirugía no reconstructiva de mama. *Cirugía Mayor Ambulatoria* **18**, 3–6 (2013).
49. Bashandy, G. M. N. & Al, E. Pectoral nerves I and II blocks in multimodal analgesia for breast cancer surgery: a randomized clinical trial. *Reg. Anesth. Pain Med.* **40**, 68–74 (2015).
50. Bouzinac, A., Tournier, J.-J. [Sensory blockade and efficiency of the 'pec block 2' for postoperative analgesia after breast cancer surgery]. *Journal de gynécologie, obstétrique et biologie de la reproduction* **44**, 98–99 (2015).
51. Bouzinac, A., Tournier, J.-J. [Interest of ultrasound-guided lateral pectoral nerve block associated with paravertebral block for complete mastectomy pain management]. *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation* **33**, 548–550 (2014).
52. Ueshima, H. & Kitamura, A. et al. Blocking of Multiple Anterior Branches of Intercostal Nerves (Th2-6) Using a Transversus Thoracic Muscle Plane Block. *Reg. Anesth. Pain Med.* **40**, 388 (2015).
53. Andreae, M. & Andreae, D. Local anaesthetics and regional anaesthesia for preventing chronic pain after surgery. *Cochrane Database Syst Rev* **10**, CD007105 (2012).
54. Arvelo, F. & Cotte, C. Hipoxia en la malignidad del cáncer. Revisión. *Invest. Clin.* **50**, 529–546 (2009).
55. Sood, AK; Armaiz-Pena, GN; Halder, J; Nick, A. Adrenergic modulation of focal adhesion kinase protects human ovarian cancer cells for anoikis. *J Clin Invest* **120**, 1515–1523 (2010).
56. Deegan, C. A. et al. Anesthetic Technique and the Cytokine and Matrix Metalloproteinase Response to Primary Breast Cancer Surgery. **35**, 490–495 (2010).
57. Nakayama, K., Nakayama, N. & Katagiri, H. et al. Mechanisms of ovarian

- cancer metastasis: Biochemical pathways. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 11705–11717 (2012).
58. Snyder GL, Greenberg S. Effect of anaesthetic technique and other perioperative factors on cancer recurrence. *Br J Anaesth* **Aug 105 (2)**, 106–115 (2010).
 59. Ben-Eliyahu S, Page GG, Y. R. et al. Evidence that stress and surgical interventions promote tumor development by suppressing natural killer cell activity. *Int J Cancer* **Mar 15 (6)**, 880–8 (1999).
 60. Cook LM, Hurst D. Metastasis suppressors and the tumor microenvironment. *Semin Cancer Biol.* **21**, 113–122 (2011).
 61. Wigmore et al. Long-term Survival for Patients Undergoing Volatile versus IV Anesthesia for Cancer Surgery. *Anesthesiology* **124**, 69–79 (2016).
 62. Stagg, J. Mesenchymal Stem cells in cancer. *Stem Cell Rev* **4**, 119–124 (2008).
 63. O’Riain SC, Buggy DJ, Kerin MJ, W. R. et al. Inhibition of the stress response to breast cancer surgery by regional anesthesia and analgesia does not affect vascular endothelial growth factor and prostaglandin E2. *Anesth Analg* **100**, 244–9 (2005).
 64. Biki, B. et al. Anesthetic technique for radical prostatectomy surgery affects cancer recurrence: a retrospective analysis. *Anesthesiology* **109**, 180–187 (2008).
 65. Langers, I., Renoux, V. M., Thiry, M. & Al, E. Natural killer cells: role in local tumor growth and metastasis. *Biologics* **6**, 73–82 (2012).
 66. Andersen BL, Farrar WB, G.-K. D. et al. Stress and immune responses after surgical treatment for regional breast cancer. *J Natl Cancer Inst* **Jan 7; 90 (1)** 30–6 (1998).
 67. Brittenden J, Heys SD, Ross J, E. O. Natural killer cells and cancer. *Cancer* **Apr 1; 77 (7)**, 1226–43 (1996).
 68. Ksienzyk A, Neumann B, Nandakumar R, et al. IRF-1 expression is essential for natural killer cells to suppress metastasis. *Cancer res* **71**, 6410–6418 (2011).
 69. Imai K, Matsuyama S, Miyake S, S. K. et al. Natural cytotoxic activity of peripheral-blood lymphocytes and cancer incidence: an 11-year follow-up study of a general population. *Lancet* **356**, 1795–1799 (2000).
 70. Garcia-Lora A, Algarra I, Gaforio JJ, R.-C. F. et al. Immunoselection by T lymphocytes generates repeated MHC class I-deficient metastatic tumor variants. *Int J Cancer* **Jan 1; 91 (1)**; 109–19 (2001).
 71. Mansi JL, Gogas H, Bliss JM, Gazet JC, B. U. et al. Outcome of primary-breast-cancer patients with micrometastases: a long-term follow-up study. *Lancet* **Jul 17; 354 (9174)**; 197–202 (1999).

72. Rao, V. S. R., Dyer, C. E., Jameel, J. K. A. & Al, E. Potential prognostic and therapeutic roles for cytokines in breast cancer (Review). *Oncol Rep Jan 15*, 179–185 (2006).
73. Kakinuma, T. & Al, H. et. Chemokines, chemokine receptors, and cancer metastasis. *J. Leukoc. Biol.* **79**, 639–51 (2006).
74. Yu, D. et al. ILs-3, 6 and 11 increase, but ILs-10 and 24 decrease stemness of human prostate cancer cells in vitro. *Oncotarget* **6**, 42687–42703 (2015).
75. Frolova O, Benito J, Brooks C, W. R. et al. SL-401 and SL-501, targeted therapeutics directed at the interleukin-3 receptor, inhibit the growth of leukaemic cells and stem cells in advanced phase chronic myeloid leukaemia. *Br. J. Haematol.* **166**, 862–874 (2014).
76. Heinrich PC, Behrmann I, Haan S, H. H. et al. Principles of interleukin (IL)-6-type cytokine signalling and its regulation. *Biochem J Aug 15*; 374 (Pt 1); 1–20 (2003).
77. Perez-Asensio, F. J., Perpiñá, U. & Al, P. et. Interleukin-10 regulates progenitor differentiation and modulates neurogenesis in adult brain. *J. Cell Sci.* **126**, 4208–19 (2013).
78. Dorsey R, Kundu N, Yang Q, et al. Immunotherapy with interleukin-10 depends on the CXC chemokines inducible protein-10 and monokine induced by IFN-gamma. *Cancer res* **62**, 2606–2610 (2002).
79. Nakata A, Tsujimura T, Sugihara A, et al. Inhibition by interleukin 18 of osteolytic bone metastasis by human breast cancer cells. *Anticancer Res* **19**, 4131–4138 (1999).
80. Faga, A. R. R. M. R. Hipoxia tumoral. Papel del factor inducible por hipoxia. *Actas Urol Esp* **33**, 941–951 (2009).
81. Holger K, Eltzschig, M.D, et al. Hypoxia and Inflammation. *N Engl J Med* **364**, 656–665 (2011).
82. Badowska-Kozakiewicz, A. & Sobol, et al. Expression of Hypoxia-Inducible Factor 1 α in Invasive Breast Cancer with Metastasis to Lymph Nodes: Correlation with Steroid Receptors, HER2 and EPO-R. *Adv. Clin. Exp. Med.* **25**, 741–750 (2016).
83. Boticario, C. & Cascales, M. Hipoxia y cáncer. *An. R. Acad. Nac. Farm.* **76**, 379–408 (2010).
84. Chen, X. Y. et al. High expression of substance P and its receptor neurokinin-1 receptor in colorectal cancer is associated with tumor progression and prognosis. *Onco Targets Ther* **9**, 3595–3602 (2016).
85. https://es.wikipedia.org/wiki/Sustancia_P. Octubre 2016.
86. Cassinello, F., Prieto, I., del Olmo, M., Rivas, S. & Al, E. Cancer surgery: how may anesthesia influence outcome? *J. Clin. Anesth.* **27**, 262–72

- (2015).
87. Munoz, M., Rosso, M., Casinello, F. & Al, E. Paravertebral anesthesia: how substance P and the NK-1 receptor could be involved in regional block and breast cancer recurrence. *Breast cancer research and treatment* **122**, 601–603 (2010).
 88. Yamaguchi K, Takagi Y, Aoki S, F. M. et al. Significant detection of circulating cancer cells in the blood by reverse transcriptase-polymerase chain reaction during colorectal cancer resection. *Ann Surg* **Jul 232**; 58–65 (2000).
 89. Shavit Y, B.-E. S. et al. Effects of fentanyl on natural killer cell activity and on resistance to tumor metastasis in rats. Dose and timing study. *Neuro-immunomodulation* **11 (4)**; 255–60 (2004).
 90. Melamed R , Bar-Yosef S, S. G. et al. Suppression of natural killer cell activity and promotion of tumour metastasis by ketamine, thiopental, and halothane, but not by propofol: mediating mechanisms and prophylactic measures. *Anesth Analg* 1331–9 (2003).
 91. Buggy DJ, S. G. Epidural anaesthesia and analgesia: better outcome after major surgery? Growing evidence suggests so. *BMJ* **319, Aug 28, 319 (7209)**; 530–1 (1999).
 92. Lacy AM, Garcia-Valdecasas JC, D. S. et al. Laparoscopy- assisted colectomy versus open colectomy for treatment of non-metastatic colon cancer: a randomised trial. *Lancet* **Jun 29,359 (9325)**; 2224–9 (2002).
 93. Cata, J. P., Gottumukkala, V. & Al, S. et. How regional analgesia might reduce postoperative cancer recurrence. *Eur. J. Pain Suppl.* **5**, 345–355 (2011).
 94. Hanahan D, W. R. The hallmarks of cancer. *Cell* **Jan 7, 100 (1)** ; 57–70 (2000).
 95. Coussens LM, W. Z. Inflammation and cancer. *Nature* **420**, 860–7 (2002).
 96. Abramovitch, R., Marikovsky, M., Meir, G. & Al, E. Stimulation of tumour growth by wound-derived growth factors. *Br J Cancer* **79**, 1392–1398 (1999).
 97. Amato A, P. M. perioperative blood transfusion for the recurrence of colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* CD005033 (2006).
 98. Hiller, J., Brodner, G. & Gottschalk, A. Understanding clinical strategies that may impact tumour growth and metastatic spread at the time of cancer surgery. *Best Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.* **27**, 427–439 (2013).
 99. Bartal I, Melamed R, Greenfeld K, Atzil S, G. A. et al. Immune perturbations in patients along the perioperative period: alterations in cell surface markers and leukocyte subtypes before and after surgery. *Brain Behav Immun* **24**, 376–86 (2010).

100. Ben-Eliyahu, S. The promotion of tumor metastasis by surgery and stress: Immunological basis and implications for psychoneuroimmunology. *Brain. Behav. Immun.* **17**, 27–36 (2003).
101. Melamed, R. *et al.* Marginating pulmonary-NK activity and resistance to experimental tumor metastasis: suppression by surgery and the prophylactic use of a beta-adrenergic antagonist and a prostaglandin synthesis inhibitor. *Brain. Behav. Immun.* **19**, 114–26 (2005).
102. Murray, D. R., Polizzi, S. M. & Al, H. *et.* Myocardial ischemia alters immunoregulatory cell traffic and function in the rat independent of exogenous catecholamine administration. *J. Neuroimmunol.* **71**, 107–113 (1996).
103. Markovic-Bozic, J. *et al.* Effect of propofol and sevoflurane on the inflammatory response of patients undergoing craniotomy. *BMC Anesthesiol.* **16**, 18 (2016).
104. Romero, L. M. *et al.* Possible mechanism by which stress accelerates growth of virally derived tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* **89**, 11084–11087 (1992).
105. Sánchez Segura M, G. G. M. *et al.* Estrés y sistema inmune. *Inst. Hematol. e Inmunol. Artic. revisión* at <http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol23_2_07/hih01207.html>
106. Borysenko J, B. M. Sobre la Psiconeuroinmunología: Cómo la mente influye sobre la salud y las enfermedades...y cómo hacer que esta influencia sea beneficiosa. *Exec Heal.* **19**, 1–12 (1983).
107. Ring C, Drayson M, Walkey DG, *et al.* Secretory immunoglobulin A reactions to prolonged mental arithmetic stress: Intersession reliability. *Biol Psychol* **Vol 59 (1)**; 1–13 (2002).
108. Lysle DT, Cunnick JE, F. H. *et al.* Pavlovian conditioning of shock-induced suppression of lymphocyte reactivity: Acquisition, extinction, and preexposure effects. *Life Sci* **42 (22)** 2185–94 (1988).
109. Croiset G, Heijnen CJ, Veldhuis HD, D. W. R. Modulation of the immune response by emotional stress. *Life Sci* **Feb 23, 40 (8)**;775–82 (1987).
110. Fillion L, Belles-Isles M, Lemyre L, R. R. Reliability of lymphocyte proliferation assays. *Stress Med* **10 (1)** 43–48 (1994).
111. Weiss JM, Sundar SK, B. K. *et al.* Behavioral and neural influences on cellular immune responses: Effects of stress and interleukin-1. *J Clin Psychiatry* **50 Supl (5)** 43–53 (1989).
112. Hucklebridge F, Clow A, E. P. The relationship between salivary immunoglobulin A and cortisol: Neuroendocrine response to awakening and the diurnal cycle. *Int J Psychophysiol* **31 (1) Dec** 69–76 (1998).
113. Moynihan JA, Ader R, Crota L, S. T. *et al.* The Effects of stress on the development of immunological memory following low-dose antigen

- priming in mice. *Brain Behav Immun* **4** (1); 1–2 (1990).
114. Dantzer R, Kelley K. Stress and immunity: An integrated view of the relationship between the brain and the immune system. *Life Sci* **44** (26); 1995–2008 (1989).
 115. Webster JI, S. E. Neuroendocrine regulation of immunity. *Ann Rev Immunol* **20**, 125–63 (2002).
 116. Cassinello, F. P. I. D. O. M. R. S. Cancer surgery: How may anesthesia influence outcome? *J Clin Anesth* **27**, 262–272 (2015).
 117. AJ, D. Nervous system- immune system interactions: An overview. *J Recept Rev* **8**; 589–607 (1988).
 118. Nagi E, Berczi I, F. H. Regulation of immunity in rats by lactogenic and growth hormones. *Acta Endocrinol* **102**; 351–7 (1983).
 119. Blalock JE, H.-M. M. D. et al. Peptide hormones shared by the neuroendocrine and immunologic system. *J Immunol* **Aug 135** (2 Supl) 858s–61s (1985).
 120. Dinarello CA, C. J. et al. Tumor necrosis factor is an endogenous pyrogen and inducer production of interleukin-1. *J Exp Med* **163**, (1986).
 121. Hori T, Katafuchi T, T. S. et al. Neuroimmunomodulatory actions of hypothalamic interferon-alpha. *Neuroimmunomodulation* **May-Aug; 5** (3-4), 172–7 (1998).
 122. Rajagopalan, S. M. D.; M. et al. The Effects of Mild Perioperative Hypothermia on Blood Loss and Transfusion Requirement. *Anesthesiology* **108**, 71–77 (2008).
 123. Dixon E, Datta I, Sutherland FR, V. J. Blood loss in surgical oncology: neglected quality indicator? *J Surg Oncol* **99**, 508–12 (2009).
 124. Kurz A, Sessler DI, L. R. Perioperative normothermia to reduce the incidence of surgical-wound infection and shorten hospitalization: Study of Wound Infection and Temperature Group. *N Engl J Med* **May 9 334** (19) 1209–15 (1996).
 125. Santamaria, L. B., Schifilliti, D. & Al, T. et. Drugs of anaesthesia and cancer. *Surg. Oncol.* **19**, 63–81 (2010).
 126. Du, W. et al. Effect of neoadjuvant chemotherapy on sevoflurane MAC-BAR value of patients undergoing radical stomach carcinoma surgery. *Int. J. Clin. Exp. Med.* **8**, 5649–57 (2015).
 127. Potočnik, I. et al. Antiinflammatory effect of sevoflurane in open lung surgery with one-lung ventilation. *Croat. Med. J.* **55**, 628–37 (2014).
 128. I., K. S. G.-O. L. et al. Effects of inhalation anaesthetics halothane, sevoflurane, and isoflurane on human cell lines. *Life Sci* Sep 23; **77**(19), 2369–83 (2005).

129. Hurmath, F. K., Mittal, M. & Ramaswamy, P. et al. Sevoflurane and thiopental preconditioning attenuates the migration and activity of MMP-2 in U87MG glioma cells. *Neurochem. Int.* **94**, 32–8 (2016).
130. Sugimoto, H. et al. [Exposure to 1 % Sevoflurane for 6 Hours Enhances Proliferation of Human Colon Cancer Cells]. *Masui.* **64**, 357–61 (2015).
131. Nishiwada, T., Kawaraguchi, Y., Uemura, K. & Al, E. Effect of sevoflurane on human hepatocellular carcinoma HepG2 cells under conditions of high glucose and insulin. *J. Anesth.* **29**, 805–8 (2015).
132. Shi, Q. Y. et al. Sevoflurane promotes the expansion of glioma stem cells through activation of hypoxia-inducible factors in vitro. *Br. J. Anaesth.* **114**, 825–30 (2015).
133. Liang, H. et al. Sevoflurane suppresses hypoxia-induced growth and metastasis of lung cancer cells via inhibiting hypoxia-inducible factor-1 α . *J. Anesth.* **29**, 821–30 (2015).
134. Wada H , Seki S, Takahashi T, Kawarabayashi N, et al. Combined spinal and general anaesthesia attenuates liver metastasis by preserving TH1/TH2 cytokine balance. *Anesthesiology* **106**, 499–506 (2007).
135. Mitsuata H, Shimizu R, Y. M. Suppressive effects of volatile anaesthetics on cytokine release in human peripheral blood mononuclear cells. *Int J Immunopharmacol Jun*, **17 (6)** 529–34 (1995).
136. Lu, Y. et al. Sevoflurane attenuate hypoxia-induced VEGF level in tongue squamous cell carcinoma cell by upregulating the DNA methylation states of the promoter region. *Biomed. Pharmacother. = Biomédecine pharmacothérapie* **71**, 139–45 (2015).
137. Al, W. H. K. B. et al. Isoflurane and sevoflurane affect cell survival and BCL-2/BAX ratio differently. *Brain res* **1037**, 139–147 (2005).
138. Mammoto T, Mukai M , Mammoto A, Y. Y. et al. Intravenous anaesthetic propofol inhibits invasion of cancer cells. *Cancer Lett* Oct 28; **184 (2)** 165–70 (2002).
139. Kushida A, Inada T, S. K. . Enhancement of antitumor immunity after propofol treatment in mice. *Inmunopharmacol Immunotoxicol* **29 (3-4)** 477–86 (2007).
140. Xu, J., Xu, W. & Zhu, J. Propofol suppresses proliferation and invasion of glioma cells by upregulating microRNA-218 expression. *Mol. Med. Rep.* Oct **12 (4)**, 4815–4820 (2015). doi:10.3892/mmr.2015.4014
141. Wang, Z. T., Gong, H. Y., Zheng, F., Liu, D. J. & Dong, T. L. Propofol suppresses proliferation and invasion of pancreatic cancer cells by upregulating microRNA-133a expression. *Genet. Mol. Res.* **14**, 7529–37 (2015).
142. Peng, Z. & Zhang, Y. Propofol inhibits proliferation and accelerates apoptosis of human gastric cancer cells by regulation of microRNA-451

- and MMP-2 expression. *Genet. Mol. Res.* **15**, (2016).
143. Zhang, J., Zhang, D., Wu, G. Q., Feng, Z. Y. & Zhu, S. M. Propofol inhibits the adhesion of hepatocellular carcinoma cells by upregulating microRNA-199a and downregulating MMP-9 expression. *Hepatobiliary Pancreat. Dis. Int.* **12**, 305–309 (2013).
 144. Ye, Z., Jingzhong, L., Yangbo, L., Lei, C. & Jiandong, Y. Propofol inhibits proliferation and invasion of osteosarcoma cells by regulation of microRNA-143 expression. *Oncol. Res.* **21**, 201–7 (2013).
 145. Tian, Y., Guo, S., Guo, Y. & Jian, L. Anesthetic Propofol Attenuates Apoptosis, A β Accumulation, and Inflammation Induced by Sevoflurane Through NF- κ B Pathway in Human Neuroglioma Cells. *Cell. Mol. Neurobiol.* **35**, 891–8 (2015).
 146. Chen, Y., Liang, M., Zhu, Y. & Zhou, D. [The effect of propofol and sevoflurane on the perioperative immunity in patients under laparoscopic radical resection of colorectal cancer]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* **95**, 3440–4 (2015).
 147. Siddiqui, R. A. *et al.* Anticancer properties of propofol-docosahexaenoate and propofol-eicosapentaenoate on breast cancer cells. *Breast Cancer Res.* **7**, R645-54 (2005).
 148. Garib V , Lang K , Niggemann B, Zanker K S, B. L. & . D. T. Propofol-induced calcium signalling and actin reorganization within breast carcinoma cells . *Eur J Anaesthesiol* **Aug 22 (8)** 609–15 (2005).
 149. Garib V, Niggemann B, Z. K. *et al.* Influence of non-volatile anesthetics on the migration behavior of the human breast cancer cell line MDA-MB-468. *Acta Anaesthesiol Scand* **Aug 46 (7)**, 836–44 (2002).
 150. Saito Shibakawa Y , Sasaki Y, Goshima Y, *et al.* Effects of ketamine and propofol on inflammatory responses of primary glial cell cultures stimulated with lipopolysaccharide. *Br J Anaesth* **Dec 95 (6)**, 803–10 (2005).
 151. Xu, Y. J. *et al.* Effects of anaesthesia on proliferation, invasion and apoptosis of LoVo colon cancer cells in vitro. *Anaesthesia* **71**, 147–54 (2016).
 152. Ke J J, Zhan J, Feng XB, Wu Y , Rao Y, W. A comparison of the effect of total intravenous anaesthesia with propofol and remifentanyl and inhalational anaesthesia with isoflurane on the release of pro-and anti-inflammatory cytokines in patients undergoing open cholecystectomy. *Anaesth Intensive Care* **Jan 36 (1)**, 74–8 (2008).
 153. Brasil LJ, San-Miguel B, Kretzmann NA, G. D. A. J. & Zettler CG, Marroni N, *et al.* Halothane induces oxidative stress and NF- κ B activation in rat liver: protective effect of propofol. *Toxicology* Oct 3 **227 (1-2)**, 53–61 (2007).
 154. Sprung, J. *et al.* Outcomes after radical prostatectomy for cancer: a comparison between general anesthesia and epidural anesthesia with

- fentanyl analgesia: a matched cohort study. *Anesth. Analg.* **119**, 859–866 (2014).
155. Pei, L. *et al.* Ultrasound-Assisted Thoracic Paravertebral Block Reduces Intraoperative Opioid Requirement and Improves Analgesia after Breast Cancer Surgery: A Randomized, Controlled, Single-Center Trial. *PLoS One* **10**, e0142249 (2015).
 156. El Mouedden M, M. T. The impact of the opioids fentanyl and morphine on nociception and bone destruction in a murine model of bone cancer pain. *Pharmacol Biochem Behav* **87**, 30–40 (2007).
 157. El Mouedden M, M. T. Pharmacological evaluation of opioid and non-opioid analgesics in a murine bone cancer model of pain. *Pharmacol Biochem Behav* **86**, 458–67 (2007).
 158. Beilin B, Shavit Y, Hart J, Mordashov B, Cohn S, Notti I, *et al.* Effects of anesthesia based on large versus small doses of fentanyl on natural killer cell cytotoxicity in the perioperative period. *Anesth Analg* Mar **82** (3), 492–7 (1996).
 159. Beilin B, Shavit Y, Cohn S, K. E. Narcotic-induced suppression of natural killer cell activity in ventilated and nonventilated rats. *Clin Immunol Immunopathol* **64**, 173–6 (1992).
 160. Atcheson R, Rowbotham DJ, L. D. Fentanyl inhibits the release of [3H]noradrenaline from SH-SY5Y human neuroblastoma cells. *Br J Anaesth* **72**, 98–103 (1994).
 161. Al, S. R. *et.* Morphine increases metastatic tumor growth. *Brain Res Bull* Mar **16** (3), 363–7 (1986).
 162. Yeager MP, C. T. Effect of morphine on growth of metastatic colon cancer in vivo. *Arch Surg* **126**, 454–6 (1991).
 163. Y., K. Effects of morphine on cancer pain and tumor growth and metastasis. *Nippon Rinsho* **59**, 1669–74 (2001).
 164. Sasamura T, Nakamura S, Iida Y, Fujii H, Murata J, Saiki I, *et al.* Morphine analgesia suppresses tumor growth and metastasis in a mouse model of cancer pain produced by orthotopic tumor inoculation. *Eur J Pharmacol* Apr **26**; **441** (3), 185–91 (2002).
 165. Singleton PA, M. J. Effect of perioperative opioids on cancer recurrence: a hypothesis. *Futur. oncol* Aug **6** (8), 1237–42 (2010).
 166. Gupta K, Kshirsagar S. Morphine stimulates angiogenesis by activating proangiogenic and survival promoting signaling and promotes breast tumor growth. *Cancer Res.* Aug 1; **62**(15), 4491–8 (2002).
 167. Budd K. Pain management: is opioid immunosuppression a clinical problem? *Biomed. Pharmacother. = Biomédecine pharmacothérapie* Aug **60**(7), 310–7 (2006).

168. Cadet P, Mantione KJ, S. G. Molecular identification and functional expression of mu 3, a novel alternatively spliced variant of the human mu opiate receptor gene. *J Immunol* May 15; **170 (10)** 118–23 (2003).
169. Schafer M, M. S. Opioid therapy and tumor progression. *Adv Palliat. Med* **8 (2)**,53–6 (2009).
170. Harimaya Y, Koizumi K, Andoh T, Nojima H, Kuraishi Y, S. I. Potential ability of morphine to inhibit the adhesion, invasion and metastasis of metastatic colon 26-L5 carcinoma cells. *Cancer Lett* Dec 10; **187 (1-2)** 121–7 (2002).
171. Tegeder I, Grosch S, Schmidtko A, H. A. et al. G protein-independent G1 cell cycle block and apoptosis with morphine in adenocarcinoma cells: involvement of p53 phosphorylation. *Cancer res* Apr 15; **65 (8)**, 1846–52 (2003).
172. Hatsukari I, Hitosugi N, Ohno R, Hashimoto K, Nakamura S, Satoh K, et al. Induction of apoptosis by morphine in human tumor cell lines in vitro. *Anticancer Res* Mar- Apr **27 (2)**, 857–64 (2007).
173. Hatsukari I, Hitosugi N, Matsumoto I, Nagasaka H, S. H. Induction of early apoptosis marker by morphine in human lung and breast carcinoma cell lines. *Anticancer Res* May- Jun **23 (3B)**, 2413–7 (2003).
174. Gupta K, Kshirsagar S, C. L. et al. Morphine stimulates angiogenesis by activating proangiogenic and survival-promoting signaling and promotes breast tumor growth. *Cancer Res* **62** 4491–8 (2002).
175. Farooqui M, Li Y, R. T. et al. COX-2 inhibitor celecoxib prevents chronic morphine-induced promotion of angiogenesis, tumour growth, metastasis and mortality, without compromising analgesia. *Br J Cancer* Dec 3; **97 (11)**, 1523–31 (2007).
176. King T, Vardanyan A, Majuta L, Melemedjian O, Nagle R, Cress AE, et al. Morphine treatment accelerates sarcoma-induced bone pain, bone loss, and spontaneous fracture in a murine model of bone cancer. *Pain* Nov **132 (1-2)** ,154–68 (2007).
177. Hashiguchi S, Morisaki H, Kotake Y, T. J. Effects of morphine and its metabolites on immune function in advanced cancer patients. *J Clin Anesth* Dec **17 (8)**,575–80 (2005).
178. Turini, M. E. & DuBois, R. N. Cyclooxygenase-2: a therapeutic target. *Annu. Rev. Med.* **53**, 35–57 (2002).
179. Majumder, M. et al. COX-2 Induces Breast Cancer Stem Cells via EP4/PI3K/AKT/NOTCH/WNT Axis. *Stem Cells* (2016). doi:10.1002/stem.2426
180. Leahy KM, Ornberg RL, Wang Y, Zweifel BS, Koki AT, M. J. Cyclooxygenase-2 inhibition by celecoxib reduces proliferation and induces apoptosis in angiogenic endothelial cells in vivo. *Cancer Res* Feb 1; **62 (3)**, 625–31 (2002).

181. Benish MBI, Goldfarb Y, Levi B, Avraham R, et al. Perioperative use of beta-blockers and COX-2 inhibitors may improve immune competence and reduce the risk of tumor metastasis. *Ann Surg Oncol* **Jul 15 (7)**, 2042-52 (2008).
182. Forget, P. & De Kock, M. [Could anaesthesia, analgesia and sympathetic modulation affect neoplastic recurrence after surgery? A systematic review centred over the modulation of natural killer cells activity]. *Ann. Fr. d'anesthésie réanimation* **28**, 751–68 (2009).
183. Harris RE, Beebe-Donk J, A. G. Reduction in the risk of human breast cancer by selective cyclooxygenase-2 (COX-2) inhibitors. *BMC Cancer* **27 Jan 30,6**; 27 (2006).
184. Rothwell, P. M. *et al.* Effect of daily aspirin on risk of cancer metastasis: a study of incident cancers during randomised controlled trials. *Lancet* **379**, 1591–1601 (2012).
185. Rothwell, P. M. *et al.* Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet* **376**, 1741–1750 (2010).
186. DI, S. Analgesia regional y riesgo de recaída del cáncer. *Rev Esp Anestesiología Reanim* **55**, 133–134 (2008).
187. Byrne, K., Levins, K. J. & Buggy, D. J. Can anesthetic-analgesic technique during primary cancer surgery affect recurrence or metastasis? *Anesthesiology* **105**, 660–664 (2015).
188. Fidler, I. J. The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis revisited. *Nat. Rev. Cancer* **3**, 453–458 (2003).
189. Deegan, C. A. *et al.* Effect of anaesthetic technique on oestrogen receptor-negative breast cancer cell function in vitro. *Br. J. Anaesth.* **103**, 685–690 (2009).
190. Scully, O. J., Bay, B.-H. & Al, E. Breast cancer metastasis. *Cancer Genomics Proteomics* **9**, 311–20 (2012).
191. Groetelaers RP, van Berlo CL, Nijhuis PH, Schapers RF, G. H. Axillary recurrences after negative sentinel lymph node biopsy under local anaesthesia for breast cancer: a follow-up study after 5 years. *Eur J Surg Oncol* **35**, 159–163 (2009).
192. Le Cras AE, Gallery HF, W. N. Spinal but not general anaesthesia increases the ratio of T helper 1 to T helper 2 cell subsets in patients undergoing transurethral resection of the prostate. *Anesth Analg* **87**, 1421–5 (1998).
193. Sakaguchi M, Kuroda Y, H. M. The antiproliferative effect of lidocaine on human tongue cancer cells with inhibition of the activity of epidermal growth factor receptor. *Anesth Analg* **Apr 102 (4)**, 1103–7 (2006).
194. Mammoto T, Higashiyama S, Mukai M, Mammoto A, Ayaki M, Mashimo

- T, et al. Infiltration anesthetic lidocaine inhibits cancer cell invasion by modulating ectodomain shedding of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF). *J Cell Physio* **192**, 351–8 (2002).
195. T., M. Ropivacaine inhibits serum-induced proliferation of colon adenocarcinoma cells in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* **Feb 288 (2)**, 660–4 (1999).
 196. Bundscherer, A. et al. Effects of ropivacaine, bupivacaine and sufentanil in colon and pancreatic cancer cells in vitro. *Pharmacol. Res.* **95–96**, 126–131 (2015).
 197. Cai, X.-Y. et al. Ropivacaine- and bupivacaine-induced death of rabbit annulus fibrosus cells in vitro: involvement of the mitochondrial apoptotic pathway. *Osteoarthritis Cartilage* **23**, 1763–1775 (2015).
 198. Boland, J. W., Ziegler, L., Boland, E. G., McDermid, K. & Bennett, M. I. Is regular systemic opioid analgesia associated with shorter survival in adult patients with cancer? A systematic literature review. *Pain* **156**, 2152–2163 (2015).
 199. Desmond, F., McCormack, J., Mulligan, N., Stokes, M. & Buggy, D. J. Effect of anaesthetic technique on immune cell infiltration in breast cancer: a follow-up pilot analysis of a prospective, randomised, investigator-masked study. *Anticancer Res.* **35**, 1311–1319 (2015).
 200. Vogelaar, F. J., Lips, D. J., van Dorsten, F. R. C., Lemmens, V. E. & Bosscha, K. Impact of anaesthetic technique on survival in colon cancer: a review of the literature. *Gastroenterology report* (2015). doi:10.1093/gastro/gov001
 201. Christopherson, R., James, K. E., Tableman, M. & Marshall, P. Long-Term Survival After Colon Cancer Surgery: A Variation Associated with Choice of Anesthesia. *Anesth Analg* **107**, 325–332 (2008).
 202. Wuethrich, P. Y., Thalmann, G. N. & Al, E. Epidural analgesia during open radical prostatectomy does not improve long-term cancer-related outcome: a retrospective study in patients with advanced prostate cancer. *PLoS One* **8**, e72873 (2013).
 203. Gottschalk A; Ford JG; Regelin CC, You J, Mascha EJ, S. D. et al. Association between epidural analgesia and cancer recurrence after colorectal cancer surgery. *Anesthesiology* **Jul 113 (1)**, 27–34 (2010).
 204. Hollmann, M. W. & Durieux, M. E. Local anesthetics and the inflammatory response: a new therapeutic indication? *Anesthesiology* **93**, 858–875 (2000).
 205. Samuelsson B, Dahlen SE, Lindgren JA, R. C. Leukotrienes and lipoxins: Structures, biosynthesis, and biological effects. *Science* **Sept 4; 237 (4819)**; 1171–6 (1987).
 206. Moore FA, Moore EE, R. R. Postinjury multiple organ failure: role of extrathoracic injury and sepsis in adult respiratory distress syndrome.

- New Horiz* **Nov 1 (4)**; 538–49 (1993).
207. Yanagi H, Sankawa H, Saito H, I. Y. Effect of lidocaine on histamine release and Ca²⁺ mobilization from mast cells and basophils. *Acta Anaesthesiol Scand* **Oct 40 (9)**,1138–44 (1996).
 208. Rimback G, Cassuto J, Wallin G, W. G. Inhibition of peritonitis by amide local anesthetics. *Anesthesiology* Dec **69 (6)**, 881–6 (1988).
 209. Marret E, Rolin M, Beaussier M, B. F. Meta analysis od intravenous lidocaine and postoperative recovery after abdominal surgery. *Br J Surg* Nov **95 (11)**,1331–8 (2008).
 210. Budihardjo I, Oliver H, Lutter M, Luo X, W. X. Biochemical pathways of caspase activation during apoptosis. *Annu Rev Cell Dev Biol* **15**,269–90 (1999).
 211. Sakura S, B. A. Local anesthetic neurotoxicity does not result from blockade of voltage-gated sodium channels. *Anesth Analg* **Aug 81(2)**,338–48 (1995).
 212. Li, K., Yang, J. & Han, X. Lidocaine sensitizes the cytotoxicity of cisplatin in breast cancer cells via up-regulation of RARbeta2 and RASSF1A demethylation. *Int. J. Mol. Sci.* **15**, 23519–23536 (2014).
 213. Johnson, M. E., Uhl, C. B. & Al, S. et. Mitochondrial injury and caspase activation by the local anesthetic lidocaine. *Anesthesiology* **101**, 1184–1194 (2004).
 214. Wen, Q., Fan, T., Bai, S. & Sui, Y. Cytotoxicity of proparacaine to human corneal endothelial cells in vitro. *J. Toxicol. Sci.* **40**, 427–436 (2015).
 215. Kim M, L. Y. M. H. W. R. induction os apoptotic cell death in a neuroblastoma cell line by dibucaine. *Exp Cell Res* **Mar 15**;; 235–41 (1997).
 216. Arai Y; Kondo T; Tanabe K, Z. Q. L. F. O. R. L. M. K. M. Enhancement of hyperthermia-induced apoptosis by local anesthetics on human histiocytic lymphoma U937 cells. *J Biol Chem* **May 24**, 1896–93 (2002).
 217. P, B. A. E. S. Z. W. K. R. A. Cytotoxicity of local anesthetics on human mesenchymal stem cells in vitro. *Arthroscopy* **Oct,29**, 1676–84 (2013).
 218. Breu, A., Rosenmeier, K., Kujat, R. & Angele, P. The Cytotoxicity of Bupivacaine, Ropivacaine, and Mepivacaine on Human Chondrocytes and Cartilage. **117**, 514–522 (2013).
 219. G, P. J. S. B. H. G. C. S. K. Comparison of the cytotoxic effects of bupivacaine, lidocaine, and mepivacaine in equine articular chondrocytes. *Vet Anaesth Analg* **Mar;38**, 127–33 (2011).
 220. Grishko, V. X. M. W. G. P. A. Apoptosis and mitochondrial dysfunction in human condrocytes following exposure to lidocaine, bupivacaine and ropivacaine. *J Bone Jt. Surg Am* **mar;92**, 609–18 (2010).

221. Xuan, W. *et al.* Local anesthetic bupivacaine induced ovarian and prostate cancer apoptotic cell death and underlying mechanisms in vitro. *Nat. Publ. Gr.* 1–12 (2016). doi:10.1038/srep26277
222. Werdehausen, R. F. s; B. S. H. H. E. M. B. I. S. M. Apoptosis induction by different local anaesthetics in a neuroblastoma cell line. *Br J Anaesth nov*; **103**, 711–8 (2009).
223. Yon JH, Daniel-Johnson J, Carter LB, J.-T. V. Anesthesia induces neuronal cell death in the developing rat brain via the intrinsic and extrinsic apoptotic pathways. *Neuroscience* **135 (3)**,815–27 (2005).
224. Manuscript, A. NIH Public Access. **117**, 548–559 (2013).
225. Al, T. M. I. F. et. Procaine inhibits the proliferation and DNA methylation in human hepatoma cells. *Hepatol Int Sep*; **1**, 355–64 (2007).
226. Al, L. P. H. M. F. M. et. Lidocaine and ropivacaine, but not bupivacaine, demethylate deoxyribonucleic acid in breast cancer cells in vitro. *Br J Anaesth Jul* **113**, 32–8 (2014).
227. Lucchinetti, E. *et al.* Antiproliferative effects of local anesthetics on mesenchymal stem cells: potential implications for tumor spreading and wound healing. *Anesthesiology* **116**, 841–56 (2012).
228. Hulkower KI, H. R. Cell migration and invasion assays as tools for drug discovery. *Pharmaceutics* **3**, 107–24 (2011).
229. Sundarathiti, P., von Bormann, B., Suvikapakornkul, R., Lertsithichai, P. & Arnuntasupakul, V. Paravertebral Catheter for Three-Level Injection in Radical Mastectomy: A Randomised Controlled Study. *PLoS One* **10**, e0129539 (2015).
230. Jaura, A. I., Flood, G., Gallagher, H. C. & Buggy, D. J. Differential effects of serum from patients administered distinct anaesthetic techniques on apoptosis in breast cancer cells in vitro : a pilot study. *Br. J. Anaesth.* **113**, 63–67 (2014).
231. Greengrass, R. *et al.* Paravertebral block for breast cancer surgery. *Can. J. Anaesth.* **43**, 858–861 (1996).
232. Kitowski, N. J. *et al.* Local and paravertebral block anesthesia for outpatient elective breast cancer surgery. *Arch. Surg.* **145**, 592–4 (2010).
233. Klein, S. M., Bergh, A., Steele, S. M. & Georgiade, G. S. Thoracic paravertebral block for breast surgery. *Anesth. Analg.* **90**, 1402–5 (2000).
234. Myles, P. S. *et al.* Perioperative epidural analgesia for major abdominal surgery for cancer and recurrence-free survival: randomised trial. *BMJ* **342**, d1491 (2011).
235. Heaney, Á. & Buggy, D. J. Can anaesthetic and analgesic techniques affect cancer recurrence or metastasis? *Br. J. Anaesth.* **109**, 17–28 (2012).

236. Cummings, K. C., Xu, F., Cummings, L. C. & Cooper, G. S. A comparison of epidural analgesia and traditional pain management effects on survival and cancer recurrence after colectomy: a population-based study. *Anesthesiology* **116**, 797–806 (2012).
237. Y, A. Serious complications related to regional anesthesia: results of a prospective survey in France. *Anesthesiology* **87**, 479–86 (1997).
238. Grewal, S., Hocking, G. & Wildsmith, J. A. W. Epidural abscesses. *British Journal of Anaesthesia* **96**, 292–302 (2006).
239. Auroy, Y. *et al.* Major Complications of Regional Anesthesia in France The SOS Regional Anesthesia Hotline Service. *Anesthesiology* **97**, 1274–80 (2002).
240. Wingrove, Y.-M. L. D. E. local anesthetics inhibit substance P binding. *Anesthesiology* **82**, 166–173 (1995).
241. Lucchinetti, E. *et al.* Antiproliferative Effects of Local Anesthetics on Mesenchymal Stem Cells. *Anesthesiology* **116**, 841–856 (2012).
242. Chiu, Y.-S. *et al.* Bupivacaine induces apoptosis through caspase-dependent and -independent pathways in canine mammary tumor cells. *Res. Vet. Sci.* **100**, 232–238 (2015).
243. Li, Y., Jia, Z. & Al, E. Caspase-2 and microRNA34a/c regulate lidocaine-induced dorsal root ganglia apoptosis in vitro. *Eur. J. Pharmacol.* **767**, 61–66 (2015).
244. Lirk, P., Berger, R., Hollmann, M. W. & Fiegl, H. Lidocaine time- and dose-dependently demethylates deoxyribonucleic acid in breast cancer cell lines in vitro. *Br. J. Anaesth.* **109**, 200–207 (2012).
245. Miyamoto, Y. *et al.* Direct inhibition of microtubule-based kinesin motility by local anesthetics. *Biophys. J.* **78**, 940–949 (2000).
246. Yoon JR, Whipple RA, Balzer EM, Cho EH, Matrone MA, Peckhan M, M. S. Local anesthetics inhibit kinesin motility and microtentacle protrusion in human epithelial and breast tumor cells. *Breast Cancer Res. Treat.* **129**, 691–701 (2011).
247. Chang, Y. *et al.* Local anesthetics induce apoptosis in human breast tumor cells. *Anesth. Analg.* **118**, 116–24 (2014).
248. Lapin GA, H. B. *et al.* Effects of Lidocaine, Bupivacaine, and Ropivacaine on Calcitonin Gene-Related Peptide and Substance P Levels in the Incised Rat Skin. *Adv Ski. wound care* **29(4)**, 169–77 (2016).
249. Kang, D.-K., Zhao, L.-Y. & Wang, H.-L. Cytotoxic effects of local anesthesia through lidocaine/ropivacaine on human melanoma cell lines. *Brazilian J. Anesthesiol.* **66**, 594–602 (2016).
250. Tian, J. & Li, Y. [Comparative effects of vitamin C on the effects of local anesthetics ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine on human

- chondrocytes]. *Rev. Bras. Anesthesiol.* **66**, 29–36 (2016).
251. Muñoz, M. & Coveñas, R. Involvement of substance P and the NK-1 receptor in pancreatic cancer. *World J. Gastroenterol.* **20**, 2321–2334 (2014).
 252. Sahin, Y. *et al.* Serum substance P concentrations to predict oocyte maturation index and clinical pregnancy. *Gynecol. Endocrinol.* 1–5 (2016). doi:10.1080/09513590.2016.1254611
 253. Hsieh, T. *et al.* The Role of Substance P in Pulmonary Clearance of Bacteria in Comparative Injury Models. *Am. J. Pathol.* **186**, 3236–3245 (2016).
 254. Lorente, L. *et al.* Serum Levels of Substance P and Mortality in Patients with a Severe Acute Ischemic Stroke. *Int. J. Mol. Sci.* **17**, 991 (2016).
 255. Munoz, M. & Covenas, R. Involvement of substance P and the NK-1 receptor in cancer progression. *Peptides* **48**, 1–9 (2013).
 256. Garcia-Recio, S. *et al.* Substance P autocrine signaling contributes to persistent HER2 activation that drives malignant progression and drug resistance in breast cancer. *Cancer Res.* **73**, 6424–6434 (2013).
 257. Mashaghi, A. *et al.* Neuropeptide substance P and the immune response. *Cell. Mol. Life Sci.* **73**, 4249–4264 (2016).
 258. Feistritzer, C. *et al.* Natural killer cell functions mediated by the neuropeptide substance P. *Regul. Pept.* **116**, 119–126 (2003).
 259. Carvalho, B., Clark, D. J., Yeomans, D. C. & Angst, M. S. Continuous subcutaneous instillation of bupivacaine compared to saline reduces interleukin 10 and increases substance p in surgical wounds after cesarean delivery. *Anesth. Analg.* **111**, 1452–1459 (2010).
 260. Knüpfer, H. & Preiß, R. Significance of interleukin-6 (IL-6) in breast cancer (review). *Breast Cancer Res. Treat.* **102**, 129–135 (2006).
 261. Naugler, W. E. & Karin, M. The wolf in sheep's clothing: the role of interleukin-6 in immunity, inflammation and cancer. *Trends Mol. Med.* **14**, 109–119 (2008).
 262. Wong, V. W.-S. *et al.* High serum interleukin-6 level predicts future hepatocellular carcinoma development in patients with chronic hepatitis B. *Int. J. Cancer* **124**, 2766–70 (2009).
 263. Silveira, F. P. *et al.* Evaluation of serum levels of interleukin-6 and interleukin-10 in patients undergoing laparoscopic versus conventional cholecystectomy. *Rev. Col. Bras. Cir.* **39**, 33–40 (2012).
 264. Maruszynski, M. & Pojda, Z. Interleukin 6 (IL-6) levels in the monitoring of surgical trauma - A comparison of serum IL-6 concentrations in patients treated by cholecystectomy via laparotomy or laparoscopy. *Surg. Endosc.* **9**, 882–885 (1995).

265. Othman, M. S., Aref, A. M., Mohamed, A. a. & Ibrahim, W. a. Serum Levels of Interleukin-6 and Interleukin-10 as Biomarkers for Hepatocellular Carcinoma in Egyptian Patients. *ISRN Hepatol.* **2013**, 1–9 (2013).
266. Beguelin W, S. S. et al. IL10 receptor is a novel therapeutic target in DLBCLs. *Leukemia* **29**, 1684–94 (2015).
267. Winkler, B. et al. TGF beta and IL10 have an impact on risk group and prognosis in childhood ALL. *Pediatr. Blood Cancer* **62**, 72–79 (2015).
268. Dluzniewski PJ, Wang MH, Zheng SL, De Marzo AM, Drake CG, Fedor HL, Partin AW, Han M, Fallin MD, X. Variation in IL10 and other genes involved in the immune response and in oxidation and prostate cancer recurrence. *Cancer Epidemiol. biomarkers &pre- Vent. a Publ. Am. Assoc. Cancer Res. cosponsored by Am. Soc. Prev. Oncol.* **21**, 1774–1782 (2012).
269. Liang X, Zhang J, Zhu Y, Lu Y, Zhou X, Wang Z, Yu J, Yan Y, Di L, Che L, et al. Specific genetic polymorphisms of IL10-592 AA and IL10-819 TT genotypes lead to the key role for inducing docetaxel-induced liver injury in breast cancer patients. *Clinical & translational oncology: official publica- tion of the Federation of Spanish Onc.* **15**, 331–334 (2013).
270. Hart K, Landvik NE, Lind H, Skaug V, Haugen A, Z. S. A combination of functional polymorphisms in the CASP8, MMP1, IL10 and SEPS1 genes affects risk of non-small cell lung cancer. *Lung Cancer* **71**, 123–129 (2011).
271. Kozłowski, L. & Zakrzewska, I. Concentration of interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8) and interleukin-10 (IL-10) in blood serum of breast cancer patients. *Rocz. Akad. Med. Białymst.* **48**, 82–84 (2003).
272. Bhattacharjee, H. K. et al. Is Interleukin 10 (IL10) Expression in Breast Cancer a Marker of Poor Prognosis? *Indian J. Surg. Oncol.* **7**, 320–325 (2016).
273. Sultan, S. S. Paravertebral block can attenuate cytokine response when it replaces general anesthesia for cancer breast surgeries. *Saudi J. Anaesth.* **7**, 373–377 (2013).
274. Ahlers, O. et al. Intraoperative thoracic epidural anaesthesia attenuates stress-induced immunosuppression in patients undergoing major abdominal surgery. *Br. J. Anaesth.* **101**, 781–787 (2008).
275. Ortiz, M. P. et al. Effect of endovenous lidocaine on analgesia and serum cytokines: double-blinded and randomized trial. *J. Clin. Anesth.* **35**, 70–77 (2016).

IX. ANEXOS
